

**ГУ Московский областной научно-исследовательский
клинический институт (МОНКИ) им. М.Ф. Владимирского**

УДК 535.33/.34:621.373.826
ВГК ОКП 94 4180
№ госрегистрации 01201062215
Инв. № _____

УТВЕРЖДАЮ:

Директор института, чл.-корр.
РАМН, д.м.н., проф.

_____ Оноприенко Г.А.

« ____ » _____ января _____ 2011 г.

**ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ**

**«Физические и медико-биологические основы метрологического обеспечения
методов и приборов неинвазивной медицинской спектродетекции»
шифр темы: РФФИ-08-02-00769-а**

в рамках соглашения № 10-0634/04 от 25.03.2010 между Российским фондом
фундаментальных исследований (РФФИ) и ГУ МОНКИ им. М.Ф.Владимирского

Научный руководитель,
д.т.н.

_____ Рогаткин Д.А.
подпись, дата

Москва 2011

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Научный руководитель, д.т.н.	_____	Рогаткин Д.А. (раздел(ы): введение, заключение, 1, 3, 4.1, 4.3, 4.4, 5.4, 7, 8)
	подпись, дата	
Исполнители темы:		
Рук. отделения, д.м.н.	_____	Терещенко С.Г. (раздел(ы): 2, 5.1, 5.2, 5.3)
	подпись, дата	
Вед. науч. сотр., к.б.н.	_____	Петрицкая Е.Н. (раздел(ы): 2, 3, 4.1, 5.3, 6)
	подпись, дата	
Ст. науч. сотр., к.т.н.	_____	Лапаева Л.Г. (раздел(ы): 2, 3, 4.1, 4.2, 4.3, 7, 8)
	подпись, дата	
Ст. науч. сотр. к.м.н.	_____	Быченков О.А. (раздел(ы): 2, 5.1, 5.2, 5.3)
	подпись, дата	
Науч. сотр., к.б.н.	_____	Литвинова К.С. (раздел(ы): 5.2, 5.3, 5.4)
	подпись, дата	
Мл. науч. сотр.	_____	Макаров Д.С. (раздел(ы): 5.2, 5.3)
	подпись, дата	
Инженер	_____	Смирнова Н.В. (раздел(ы): 4.1, 4.2, 4.3)
	подпись, дата	
Нормоконтролер, к.м.н.	_____	Борисенко О.В.
	подпись, дата	

РЕФЕРАТ

Отчет 83 с., 1 ч., 20 рис., 15 табл., 54 источников, 0 прил.

БИОТКАНЬ, ИЗМЕРЕНИЕ, ИЗЛУЧЕНИЕ, ЛАЗЕР, МЕДИЦИНСКАЯ ДИАГНОСТИКА, МЕТРОЛОГИЯ, МЕТРОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ, НЕИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА, СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ, ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ, ПОГРЕШНОСТЬ ИЗМЕРЕНИЙ, СТАНДАРТИЗАЦИЯ

Объектом исследования явились различные физико-технические и медико-биологические факторы и явления как потенциальные источники погрешностей и ошибок измерений в новой области медицинской диагностики – неинвазивной медицинской спектрофотометрии (НМС). Основной решаемой задачей являлся поиск наиболее существенных физико-технических и медико-биологических факторов и явлений, определяющих процесс диагностического исследования, которые наиболее сильно влияют на и формируют наиболее значимые по своей величине случайные и систематические погрешности диагностики, как инструментальные, так и методические.

Цель работы – создание в перспективе научно обоснованной системы метрологического обеспечения в НМС. Речь идет в целом о метрологическом обеспечении диагностических обследований пациентов в клинике, т.е. рассматриваются вопросы метрологии не только приборов, как технических средств измерений, но и методик проведения измерений, практических приемов и алгоритмов обследований пациентов для разных нозологических форм заболеваний, методов обработки и анализа совокупной диагностической информации в НМС и т.д.

В ходе выполнения проекта обобщены и проанализированы доступные литературные данные по проблемам информативности, точности и воспроизводимости результатов измерений в НМС. Разработаны общие принципы построения стабильных и легко воспроизводимых по своим оптическим свойствам рабочих имитационных мер (РИМ), моделирующих оптические свойства живых биологических тканей в их различных функциональных состояниях. На основе изготовленных опытных образцов РИМ в лабораторных условиях исследованы достигаемые уровни и физико-технические источники погрешностей диагностики для разных диагностических методов и приборов НМС. Предложена строгая формулировка и теоретическая модель, описывающая явление диагностического объема в НМС. Медико-биологические источники погрешностей и достигаемые уровни погрешностей для разных диагностических приборов и методов НМС изучались в натуральных условиях проведения диагностических процедур в разных клиниках МОНИКИ с участием добровольных здоровых испытуемых и испытуемых с различными нозологическими формами заболеваний из числа пациентов МОНИКИ. Исследования по контрастированию и обнаружению эндогенных флюорохромоов в тканях проведены с использованием белых мышей и крыс в виварии МОНИКИ. В результате выполнения НИР впервые в мире выявлены, проанализированы и классифицированы все основные физические, технические и медико-биологические факторы и явления, наиболее сильно влияющие на точность, воспроизводимость и разброс результатов измерений в НМС. Сформулированы предложения по гармонизации понятийно-терминологического базиса в НМС. Разработаны базовые системные принципы комплексной организации метрологического обеспечения методов и приборов НМС.

Степень внедрения — результаты фундаментальных научных исследований в виде научно-технического отчета, используемые в практике МОНИКИ.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	7
1. Совокупный объем выполненных работ в рамках НИР.....	10
2. Обобщение, систематизация и анализ доступных литературных данных	12
3. Материалы и методы проведения исследований	17
4. Основные результаты физико-технического этапа исследований.....	26
4.1. Разработка общих принципов построения РИМ	12
4.2. Исследование погрешностей диагностики для разных приборов и методов на РИМ	33
4.3. Формулировка понятия диагностического объема в НМС.....	40
4.4. Выводы по результатам физико-технического этапа исследований.....	43
5. Основные результаты медико-биологических этапов исследований	44
5.1. Результаты статистических испытаний в разных клиниках МОНИКИ.....	45
5.2. Оценка устойчивости диагностических критериев к погрешностям диагностики.....	61
5.3. Проблема интерпретации суммарных спектров флюоресценции	64
5.4. Выводы по этапу медико-биологических исследований.....	68
6. Гармонизация и развитие понятийно-терминологического базиса в НМС	70
7. Принципы комплексной организации системы метрологического обеспечения в НМС.....	73
8. Список подготовленных публикаций по проекту.....	74
Заключение	79
Список использованных источников	80

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящем отчете о НИР использованы ссылки на следующие стандарты:

1. **ГОСТ 16263-70** - Государственная система обеспечения единства измерений. Метрология. Термины и определения. – М.: Госстандарт, 1970.
2. **ГОСТ 8.381-80**. Государственная система обеспечения единства измерений. Эталоны. Способы выражения погрешностей. – М.: Госстандарт, 1980.
3. **ГОСТ Р 15.013-94**. Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия. – М.: Госстандарт РФ, 1995.
4. **ГОСТ Р ИСО 9919-99**. Оксиметры пульсовые медицинские. Технические требования и методы испытаний. – М.: Госстандарт РФ. – 2000.
5. **ГОСТ Р 50723-94** - Лазерная безопасность. Общие требования безопасности при разработке и эксплуатации лазерных изделий.
6. **ГОСТ Р 51317.4.11-99** - Совместимость технических средств электромагнитная. Устойчивость к динамическим изменениям напряжения питания. Требования и методы испытаний.
7. **ГОСТ 12.1.019-79** - Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.
8. **ГОСТ 15093-90** - Лазеры и устройства управления лазерным излучением. Термины и определения.
9. **СНИП N5804-91** - Санитарные нормы и правила устройства и эксплуатации лазеров. – М.: Институт охраны труда, 1991.
10. Межгосударственные рекомендации **РМГ 29-99** «Метрология. Основные термины и определения». – М.: ВНИИМС им. Д.И. Менделеева, 2000. (С изменениями 2005г.).
11. Межгосударственные рекомендации **РМГ 43-2001** «Государственная система обеспечения единства измерений. Применение «Руководства по выражению неопределенности измерений»». - М.: ВНИИМС им. Д.И. Менделеева, 2001.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие определения, обозначения и сокращения:

- БО – биологический объект (объект наблюдения);
- БЭС – большой энциклопедический словарь;
- ДК – диагностический критерий;
- ИДП – индекс дыхательной пробы;
- ИТС – индекс тканевого содержания вещества;
- ИК – инфракрасный;
- ИМ – имитационная мера;
- КМ – Кубелки-Мунка;
- ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия;
- ЛФД – лазерная флюоресцентная диагностика;
- МТТ – медико-технические требования;
- НИР – научно-исследовательская работа;
- НМС – неинвазивная медицинская спектрофотометрия;
- ОКР – опытно-конструкторская разработка;
- ОТО – оптическая тканевая оксиметрия;
- ОФБ – оптические фантомы биотканей;
- ПК – персональный компьютер;
- ПО – программное обеспечение;
- РИМ – рабочая имитационная мера;
- РКК – резерв капиллярного кровотока;
- РФФИ – Российский фонд фундаментальных исследований;
- СИ - средство измерения
- СИМН - средства измерений медицинского назначения
- СКО – среднее квадратичное отклонение;
- ТЗ – техническое задание;
- ТП – теория переноса;
- УФ – ультрафиолетовый;
- ФПУ - фотоприемное устройство;
- ЭДО – эффективный диагностический объем.

ВВЕДЕНИЕ

Объектом исследования данной научно-исследовательской работы (НИР) являются различные физико-технические и медико-биологические факторы и явления как потенциальные источники погрешностей и ошибок измерений в новой области медицинской диагностики – *неинвазивной медицинской спектrophотометрии* (НМС). Основной решаемой задачей является поиск всех наиболее существенных физико-технических и медико-биологических факторов и явлений, определяющих процесс диагностического исследования, которые наиболее сильно влияют на и формируют наиболее значимые по своей величине случайные и систематические погрешности диагностики, как инструментальные, так и методические.

Основанием для проведения данной НИР, выполненной в рамках гранта Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) № 08-02-00769-а, явились соглашения № 08-0653/04 от 10.01.2008, № 09-0796/04 от 11.01.2009 и № 10-0634/04 от 25.03.2010 между РФФИ и ГУ МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского, подписанные в установленном порядке.

Цель данной НИР – создание в перспективе научно обоснованной системы метрологического обеспечения в НМС. Речь идет в целом о метрологическом обеспечении диагностических обследований пациентов в клинике, т.е. рассматриваются вопросы метрологии не только приборов, как технических средств измерений, но и методик проведения измерений, практических приемов и алгоритмов обследований пациентов для разных нозологических форм заболеваний, методов обработки и анализа совокупной диагностической информации в НМС и т.д.

Актуальность темы НИР обусловлена современными тенденциями развития и широкого внедрения в практическое здравоохранение и медицинскую науку новых наукоемких оптических неинвазивных диагностических технологий, в частности НМС. Это внедрение идет сегодня широким фронтом по всему миру, однако до самого последнего времени вопросам метрологии таких измерений внимания практически не уделялось, хотя данные технологии являются, по большому счету, измерительными, а вопросы единства и точности (погрешности) измерений – важнейшие и первоочередные вопросы в любых задачах измерений.

Новизна темы НИР обусловлена отсутствием подобных исследований в нашей стране и за рубежом, комплексным взглядом на проблему метрологического обеспечения в НМС, когда осуществляется попытка учета всех основных физико-технических, медико-биологических и организационно-клинических факторов и явлений, авторским системным и мультидисциплинарным биотехническим подходом к решению поставленных в НИР задач и т.д. По данным авторов такое исследование выполнено сегодня в мире впервые.

В основные задачи НИР входило:

1. Обобщение, анализ и систематизация известных литературных данных по проблемам информативности, точности и воспроизводимости результатов измерений в НМС.
2. Исследование и разработка общих физических и медико-биологических принципов построения эффективных модельных образцов (рабочих имитационных мер сравнения, калибровки, поверки), хранящих и воспроизводящих оптические свойства живых биологических тканей в их различных функциональных и патофизиологических состояниях для целей моделирования различных диагностических ситуаций в НМС.
3. Создание на основе результатов работ по п.2. макетных лабораторных образцов имитационных мер сравнения и калибровки, которые потенциально могли бы быть легко воспроизводимы и стандартизованы по своим оптическим свойствам.
4. Исследование достигаемых уровней и источников возникновения случайных и систематических, инструментальных и методических погрешностей диагностики для разных диагностических приборов и процедур НМС в лабораторных условиях на модельных образцах имитационных рабочих мер по п.3.
5. Исследование источников возникновения и уровней случайных и систематических, инструментальных и методических погрешностей диагностики для разных диагностических приборов и процедур НМС в натуральных условиях эксперимента в клинике.
6. Разработка методов теоретического описания и расчета «эффективного диагностического объема» в НМС.
7. Оценка устойчивости существующих медико-биологических диагностических критериев в НМС к погрешностям диагностики.
8. Оценка на основе результатов исследований по п.4-6 степени влияния отсутствия стандартизованных маршрутов обследования пациентов в разных областях медицины на достоверность, точность и воспроизводимость результатов диагностики в НМС.
9. Вычленение, анализ и систематизация основных физических и медико-биологических механизмов, факторов и явлений, потенциально наиболее сильно влияющих на метрологические характеристики методов и приборов НМС.
10. Исследование и разработка единых унифицированных диагностических алгоритмов и маршрутов обследования пациентов для разных областей медицины и разных нозологических форм заболеваний (в первую очередь для задач онкологии, ангиологии и радиологии).
11. Разработка по результатам исследований базовых системных принципов комплексной организации метрологического обеспечения методов и приборов НМС.
12. Формулировка рекомендаций по гармонизации и унификации понятийно-терминологического базиса в данной области медицинской физики.

13. Обобщение результатов исследований, подготовка публикаций результатов.

14. Подготовка промежуточных и итогового отчетов по проекту по правилам РФФИ.

В связи с секвестром бюджета проекта в 2009г. и выделением на проект в 2010г. суммы финансирования в (примерно) 50% от запрашиваемой, некоторые из решаемых задач проекта и общий план работ по проекту были подвергнуты небольшой корректировке по сравнению с первоначально задуманным объемом. Однако в целом это коснулось не более 15-20% изменения плана и объема работ, что допускается правилами РФФИ, причем изменения в силу ряда вновь открывавшихся обстоятельств и возможностей были проведены не только в сторону уменьшения объема работ, но и по ряду пунктов в сторону его существенного увеличения. Так, например, первоначально в проекте не планировались работы с лабораторными животными. Но в связи с организацией и созданием в ГУ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского с 01 января 2009г. отдельной специализированной научной лаборатории «Медико-физических исследований», которую возглавил руководитель данного проекта (дополнительный научно-организационный итог работы по проекту), у коллектива проекта появилась возможность проведения исследований с экспериментальными животными в виварии МОНИКИ, который вошел в структуру лаборатории. Поэтому, определенный объем работ был отведен в 2009-2010гг. на решение вновь появившихся задач по контрастированию и оценке точности обнаружения отдельных эндогенных флюорохромов в тканях мелких лабораторных животных (белые мыши и крысы линии «Wistar»).

Результирующим общим итогом работ по проекту, помимо создания в МОНИКИ специализированной научной лаборатории, стала публикация коллективом 14 научных работ. Среди них: 2 патента на изобретение, 3 статьи в центральных рецензируемых журналах, 7 статей в тематических сборниках, ряд тезисов докладов на российских и международных научных конференциях. Также подготовлены еще 2 научных статьи для журнала «Измерительная техника», которые пока не вошли в данный отчет, т.к. будут разосланы по редакциям в силу ряда причин только в середине 2011г. По мнению руководителя проекта в целом первоначально поставленная цель проекта была достигнута, все задачи проекта были решены полностью и на достаточно высоком научно-техническом уровне, а коллектив проекта получил для себя все основные ответы на все основные смысловые научные вопросы, которые ставились первоначально в проекте или возникали по ходу его выполнения.

Последующие разделы отчета отражают все основные полученные результаты в ходе выполнения данной фундаментальной 3-летней НИР, их новизну, а также все основные сформулированные выводы и рекомендации по результатам исследования. Не включены в отчет лишь некоторые отдельные, разрозненные результаты исследований, а также описание разработанных диагностических алгоритмов, т.к. предполагается их последующее патентование (способ диагностики...).

1 СОВОКУПНЫЙ ОБЪЕМ ВЫПОЛНЕННЫХ РАБОТ В РАМКАХ НИР

В рамках данного проекта РФФИ были проведены следующие основные исследования и выполнены работы:

1. Сформирован на первых этапах работ временный творческий коллектив проекта, а с 01 января 2009г. полноценный штатный состав новой лаборатории «Медико-физических исследований» в ГУ МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского для проведения исследований по проекту.

2. Проведены обобщение, анализ и систематизация известных литературных данных по проблемам информативности, точности и воспроизводимости результатов измерений в НМС.

3. Исследованы и разработаны общие физические и медико-биологические принципы построения легко воспроизводимых и стандартизованных по своим оптическим свойствам эффективных рабочих имитационных мер (РИМ) сравнения, калибровки и поверки приборов, хранящих и воспроизводящих оптические свойства живых биологических тканей в их различных функциональных и патофизиологических состояниях для целей моделирования различных диагностических ситуаций в НМС.

4. На основе результатов работ по п.3 впервые сконструированы и изготовлены наборы макетных лабораторных образцов РИМ, основанные на серийно выпускаемых материалах и комплектующих со стандартизованными и стабильными во времени оптическими свойствами, подготовлены и получены 2 патента на изобретения на способ создания РИМ и устройство конструкции данных РИМ.

5. Исследованы достигаемые уровни и физико-технические источники возникновения случайных и систематических, инструментальных и методических погрешностей диагностики для разных диагностических приборов и процедур НМС в лабораторных условиях на модельных образцах РИМ п.3-4.

6. Дано строгое определение и разработан метод теоретического описания и модельного расчета «эффективного диагностического объема» в НМС.

7. Исследованы основные медико-биологические и организационно-клинические источники возникновения и уровни случайных и систематических, инструментальных и методических погрешностей диагностики для разных диагностических приборов и процедур НМС в натуральных условиях эксперимента в клинике.

8. Выполнены постановочные исследования по контрастированию и обнаружению отдельных эндогенных флюорофоров в тканях лабораторных животных и оценке ошибок и погрешностей интерпретации суммарных спектров флюоресценции в терминах отдельных накопленных в тканях веществ.

9. Дана оценка устойчивости существующих медико-биологических диагностических критериев в НМС к погрешностям диагностики.

10. Исследована степень влияния отсутствия стандартизованных маршрутов обследования пациентов в разных областях медицины на достоверность, точность и воспроизводимость результатов диагностики в НМС.

11. Для ряда задач ангиологии и радиологии разработаны единые унифицированные диагностические алгоритмы и маршруты обследования пациентов.

12. По результатам исследований проведены анализ и систематизация основных физико-технических и медико-биологических факторов и явлений, потенциально наиболее сильно влияющих на метрологические характеристики методов и приборов НМС.

13. Сформулированы рекомендации по гармонизации и унификации понятийно-терминологического базиса в данной области медицинской физики.

14. Разработаны по результатам исследований базовые системные принципы комплексной организации метрологического обеспечения методов и приборов НМС.

15. Подготовлено 17 и из них опубликовано по результатам исследований 14 научных работ, не считая ряда мелких тезисов докладов на внутренних российских конференциях.

16. Подготовлено 2 промежуточных и 1 итоговый отчет по проекту.

В общей сложности по пункту 5 различными методами и приборами НМС проведено около 5000 лабораторных диагностических измерений. По пунктам 7, 10 и 11 в разных клиниках МОНКИ в целях исследований обследовано около 200 человек. Из них около 100 человек находились под постоянным наблюдением в ходе всего курса лечения. Полных 28 серий экспериментов было проведено с пациентами по методике повторных статистических испытаний для оценки законов распределения, математического ожидания и разброса результатов измерений в 5 разных по профилю клиниках МОНКИ: отделениях радиологии, челюстно-лицевой хирургии, профпатологии, эндоскопии и физиотерапии. Около 30 человек было приглашено дополнительно для решения этих задач в качестве добровольных, условно здоровых испытуемых. Порядка 120 лабораторных животных (белые мыши и крысы линии «Wistar») были задействованы в исследованиях по контрастированию и обнаружению эндогенных флюорофоров в тканях по п.8. К работе над проектом было привлечено 18 научных сотрудников и врачей МОНКИ, включая ординаторов и аспирантов, обладающих разным опытом работы и квалификацией в области НМС.

2 ОБОБЩЕНИЕ, СИСТЕМАТИЗАЦИЯ И АНАЛИЗ ДОСТУПНЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

Проведенный в 2008г. анализ литературных данных 84 первоисточников показал, что вопросам метрологического обеспечения методов и приборов НМС в нашей стране, в отличие от зарубежных стран, уделяется пока еще очень мало внимания. Например, последние фундаментальные отечественные монографии по биомедицинской оптике [1-4], а также последние статьи с такими многообещающими названиями, как [5-7], практически не содержат никаких сведений о метрологических аспектах (точности, сличимости и т.п.) результатов измерений в НМС.

Между тем ГОСТ Р 15.013-94 в части общих медико-технических требований (МТТ) предъявляет достаточно жесткие метрологические требования к средствам измерений медицинского назначения (СИМН). Соответственно, эти требования в полной мере могут быть сегодня предъявлены и к приборам НМС. Как известно [8-10], источниками, на которых базируется система единства измерений, являются строгая и однозначная терминология, стандартизация методов и средств измерений (СИ), единая система мероприятий по калибровке и поверке СИ, а также научно обоснованная система эффективных физических, химических и т.п. параметров объекта диагностики, выбираемых в качестве непосредственно измеряемых величин. Поэтому одним из первых и ключевых вопросов является вопрос специфики метрологической терминологии и классификации измерений в НМС [10].

В случае биомедицинских оптических измерений основной *непосредственно измеряемой величиной* является мощность излучения в выбранном спектральном диапазоне длин волн, попадающая в фотоприемное устройство (ФПУ). Все остальные вторичные физические и медико-биологические параметры определяются в НМС расчетным путем по зарегистрированным сигналам с ФПУ, т.е. методы и приборы НМС с точки зрения теоретической метрологии в том или ином виде реализуют принцип *косвенных совокупных измерений*. Часто эти измерения являются *относительными* [2], т.к. для врачей более информативными во многих случаях оказываются не абсолютные значения измеряемых величин, а их относительные изменения у индивидуума по сравнению с группой контроля, или изменения в области патологии по отношению к здоровой (интактной) области на теле пациента. Тем не менее, ряд медико-биологических показателей в НМС, особенно относящихся к содержанию в зоне обследования тех или иных биохимических компонент тканей (гемоглобина крови, воды, жира и т.п.) имеют серьезную диагностическую значимость и в своем абсолютном выражении [1], что выводит на первый план вопросы точности и сходимости таких измерений.

В зарубежных публикациях эти метрологические проблемы НМС уже начали переходить в плоскость изучения. В последнее время часто можно встретить статьи об исследовании точности, достоверности и статистического разброса результатов *in vivo* измерений в оптической тканевой

оксиметрии (ОТО), хотя, пока еще, данные разных авторов сильно разнятся между собой, а иногда и противоречат друг другу. Например, [11] содержит утверждение о погрешностях нового неинвазивного оптического церебрального оксиметра по определению церебрального O_2 в $\pm 8\%$. Для сравнения в [12] приводится погрешность образцового лабораторного настольного СО-оксиметра (PL482, Instrum. Labs Inc.) в $-6\%+7\%$, что заставляет усомниться в справедливости приведенных выше цифр. Более реалистичные оценки погрешностей неинвазивной ОТО содержатся в [13-15]. По данным этих работ они лежат в диапазоне $\pm 10\% \dots \pm 20\%$, причем даже для относительных измерений опухоль/норма погрешности в определении концентрации оксигемоглобина в крови по данным [14] достигают $\pm 25\%$, а погрешности определения общего гемоглобина (общего кровенаполнения ткани) $\pm 17\%$. Ряд же других статей содержит данные о разбросах результатов измерений в ОТО в 40-50% и более. Наиболее вероятно, что такие большие погрешности диагностики являются следствием косвенного характера измерений и необходимости в качестве промежуточного физического результата иметь оценки оптических свойств среды распространения излучения (биоткани), выполняемые путем решения обратных задач оптики светорассеивающих сред.

Поскольку практически все вычислительные алгоритмы для определения конечных медико-биологических параметров в НМС базируются на теории переноса (ТП) излучения в мутных средах, в ряде публикаций в связи с этим закономерно затрагиваются вопросы случайных погрешностей в определении погонных оптических свойств биотканей в терминах ТП. Так в [16] приводится оценка ошибок в определении погонного коэффициента поглощения в $\pm 8\%$ и погонного коэффициента рассеяния в $\pm 18\%$, откуда следует, что погрешности методов и приборов НМС не могут быть существенно ниже оценочных величин в $\pm 10\%$.

В области лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД) встречающиеся зарубежные публикации также чаще всего сегодня затрагивают вопросы точности определения и самой возможности определения концентрации различных флюорофоров в толще светорассеивающей биоткани [17-19]. Указывается в ряде случаев на слабую проработку методик идентификации конкретных флюорофоров в ткани по их суммарным регистрируемым спектрам флюоресценции [17], зависимость точности определения концентрации флюорофоров от апертуры приемной части ФПУ [18], а также на влияние на эту точность априорной информации о рассеивающих и поглощающих свойствах биотканей в выбранном спектральном диапазоне длин волн [19]. Например, в [19] приводится оценка ошибок в определении концентрации флюорофора, включенного на глубину 5 мм в светорассеивающую 40 мм толщиной среду в 50% без использования априорной информации и в 5% с ее использованием. Т.е., как уже и отмечалось выше, погрешности расчетных алгоритмов в определении оптических свойств биотканей в терминах ТП вносят существенный вклад в общую погрешность и разброс результатов измерений в НМС. Однако детальных оценок наиболее существенных источников возникновения погрешностей и их вкладов в суммарную погрешность для

разных методов и приборов НМС в литературе встретить так и не удалось. Поэтому центральная задача проекта по изучению источников возникновения погрешностей, поиску путей их минимизации, а также способов снижения погрешностей измерений в НМС остается весьма актуальной.

Большое внимание в зарубежной литературе в последнее время стало уделяться вопросам эталонирования измерений и калибровки измерительной аппаратуры в НМС [1, 15, 18, 20-22]. В большинстве публикаций, как и в [22], отмечается, что ни в одной стране мира пока не существует на государственном уровне стандартизованных прямых методов калибровки и поверки приборов подобного типа. Практически повсеместно отсутствуют стандартизованные шкалы и меры для измерений, образцовые и аттестованные средства измерений, калибровочные и поверочные государственные эталоны и т.п. Поэтому многие коллективы идут сегодня путем создания своих собственных рабочих калибровочных и тестовых мер, часто называемых в зарубежной литературе *оптическими фантомами биотканей* (ОФБ).

Это название (фантом), видимо, сложилось стихийно, без участия метрологов, и призвано подчеркнуть имитационную составляющую устройства, т.е. его принципиальное отличие от реальных фрагментов биотканей (образцов крови, лоскутов кожи и т.п.). С точки же зрения метрологической терминологии [6-10] правильнее было бы называть ОФБ *рабочими* или *образцовыми имитационными мерами*, мерами поверки и сравнения, калибровочными эталонами (в случае их соответствующей аттестации) или просто устройствами для калибровки, поверки и/или градуировки диагностических приборов НМС. Хотя термин «имитационная» и не присутствует в [10], в данном случае его введение в теоретическую метрологию представляется целесообразным, т.к. этим подчеркивается характер моделирования (имитации) оптических свойств биотканей за счет использования не биологических материалов.

Два больших обзора основных принципов функционирования имитационных мер (ИМ) и особенностей их конструкции содержатся в [1] и [21]. Как правило, способ создания ИМ заключается в построении комбинации из базисного материала-основы (матрикса), в качестве которого чаще всего используется желатин, вода, агар-агар, полиуретановая резина или гель из поливинилалкоголя, и различных наполнителей, моделирующих светорассеивающие и светопоглощающие свойства биоткани. В качестве светорассеивающего наполнителя используются жировые эмульсии, порошок из оксида титана или алюминия и/или полимерные микросферы, а в качестве светопоглощающих наполнителей используют искусственные растворы гемоглобина, молекулярные краски и/или чернила, в том числе флюоресцирующие.

Встречаются по проблемам ИМ и публикации отечественных авторов (помимо публикаций участников проекта). Здесь можно выделить, например, [23] и [24], причем в последней описывается достаточно интересный *имитатор* для пульсоксиметрии с указанием абсолютных погрешностей в передаче размера единиц сатурации в $\pm 2\%$, а также с указанием некоторой загадочной *по-*

грешности имитации в $\pm 1\%$. Однако среди всех проанализированных статей, посвященных ИМ, не удалось найти результатов систематизированных исследований проблем сличимости и воспроизводимости (временной, межлабораторной и т.п.) результатов измерений на разных ИМ и для разных методов и приборов НМС, хотя в медицинской физике в целом в мире уже известны работы даже по межгосударственной сличимости эталонов для таких разделов медицины как радиология (радиобиология), физиотерапия и др. [25]. Пожалуй, только в [26] обсуждается временная стабильность созданной деформируемой ИМ для оптической диффузионной томографии, проанализированная за период 3 месяца. Но и здесь вопросы повторяемости (воспроизводимости) оптических свойств самой меры в других условиях (другими производителями ИМ) не отражены. Т.е. вопросы возможности построения таких ИМ в НМС, которые были бы легко повторяемы и стандартизованы по своим оптическим свойствам, с долговременной стабильностью нормируемых метрологических характеристик, износостойкие и т.д., и по сей день остается открытым.

В лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), помимо задачи создания достоверных калибровочных ИМ, часто в литературе отмечается и ряд терминологических проблем, связанных с тем фактом, что выпускаемые сегодня в мире основные доплеровские флоуметры («Трансоник», США; «Перифлюкс», Швеция; «ЛАКК», РФ) отображают в качестве измеряемой величины разные параметры, разной размерности и с разными наименованиями. Так приборы фирмы «Трансоник» в качестве измеряемой величины отображают *объемный поток* (flow) в единицах измерения мл/мин/100г ткани, т.е. определяют некий расход жидкости, соотнесенный с весом ткани в объеме обследования (определение веса ткани таким методом – отдельный вопрос). Российские же приборы серии «ЛАКК» оценивают перфузию тканей кровью на основе *индекса микроциркуляции* в некоторых условных, перфузионных единицах (пф.ед.). Похожую *перфузионную емкость* оценивают приборы шведской фирмы «Перифлюкс». Как сравнивать результаты этих измерений между собой? Можно ли говорить, что методически в одном из приборов неправильно интерпретируется вычисляемый диагностический показатель? Пока этот вопрос также остается открытым. Только в книге [28] удалось найти четкое упоминание о попытке сравнить показания приборов «ЛАКК-01» и «ALF-21» в условиях эксперимента с ультрафиолетовым облучением кожи. При этом было отмечено, что оба прибора показали статистически недостоверные различия в измеряемых показателях, но полной уверенности в справедливости этих выводов пока у нас нет.

Построение калибровочных мер для задач ЛДФ осуществляется по вышеприведенным общим принципам с отличительной особенностью в том, что отдельные элементы ИМ должны быть подвижными для имитации динамики микроциркуляции крови в зоне обследования [27]. В этой статье обсуждается и проблема глубины зондирования биоткани в ЛДФ, т.е. косвенно обсуждается задача определения *диагностического объема*, сформулированная в проекте. Показано, что для большинства приборов на основе He-Ne лазера с длиной волны 0,63 мкм глубина сканирования

биоткани составляет примерно 0.5 мм. Использование же длин волн 800-900нм и полупроводниковых лазеров позволяет проводить измерения до глубин 2-20мм, что убедительно экспериментально продемонстрировано авторами цитируемой публикации с использованием слоистой ИМ с подвижными внутренними слоями.

В целом, можно сказать, что проведенный анализ данных литературы во многом подтвердил предположения, положенные в основу данного фундаментального научного проекта. Вопросы метрологии систем НМС пока еще только-только начали попадать в поле зрения специалистов по медицинской физике и технике. Первые результаты исследований точности диагностики в НМС часто противоречат друг другу. Очень много задач в этой области науки и техники остаются пока весьма далекими от решения. Сюда можно отнести сегодня такие задачи, как поиск и анализ всех наиболее существенных источников возникновения погрешностей диагностики, поиск путей учета и минимизации погрешностей диагностики, задачи воспроизводимости, сходимости и сличимости результатов измерений для разных методов и приборов НМС, задачи построения стандартизованных ИМ для калибровки и поверки приборов в НМС и т.д. Все эти задачи входят в формулировку основных задач проекта, подтверждая, таким образом, его актуальность и новизну. С другой стороны, некоторые из публикаций позволяют уже сегодня получить определенные опорные цифры по точности и разбросу результатов измерений в НМС, понять основные принципы построения ИМ, вскрыть ряд других нерешенных в метрологии НМС проблем и наметить пути их решения. Этим задачам и посвящена основная смысловая и исследовательская часть выполненного проекта РФФИ № 08-02-00769.

3 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данном научном проекте впервые была предпринята попытка комплексно и всесторонне охватить проблему метрологического обеспечения методов и приборов НМС не столько (и не только) с точки зрения сугубо инженерно-технической задачи исследования метрологических характеристик отдельно взятых измерительных приборов, как технических средств измерений (СИ), сколько с точки зрения изучения фундаментальных физических и медико-биологических механизмов, факторов и явлений, взаимосвязано влияющих на и ограничивающих точность, достоверность и воспроизводимость конечного диагностического результата в НМС. Поскольку речь идет о междисциплинарной (мультидисциплинарной) научной проблеме, в которой очень тесно связаны между собой многие вопросы как физических основ диагностики, физико-математических методов обработки результатов, так и медико-биологических особенностей объекта измерений и способов медицинской интерпретации результатов диагностики, в данном проекте неизбежно переплетались самые разные задачи из теоретической и экспериментальной физики, приборостроения и метрологии, теоретической и практической медицины. Соответственно, в ходе исследований по проекту использовался комплексный, системный и мультидисциплинарный подход к проблеме. Использовались различные методы, положения и подходы классической теоретической и экспериментальной физики, медицины, метрологии, общей инженерной теории опико-электронных и информационно-измерительных приборов и устройств, в том числе медицинских.

Оригинальность подхода коллектива проекта заключалась в ключевой гипотезе о совместном влиянии физических и медико-биологических факторов и явлений на конечные метрологические характеристики методов и приборов НМС. Это определило необходимость использования так называемого *операционального подхода* к метрологическим проблемам [30], при котором уже смысловое содержание и определение многих понятий и терминов в каком-либо разделе метрологии следует ставить в зависимость не только от свойств объекта измерений, но и от тех «операций», что осуществляются с данным объектом и/или понятием при измерениях. Многие метрологические понятия – понятия эмпирические, они относятся к наблюдаемым и измеряемым величинам. Поэтому часто нельзя точно знать или точно определить значение какого-либо понятия, параметра или диагностического критерия в метрологии, пока однозначно не определена и не стандартизована вся последовательность операций по его применению и/или измерению (оценке) в некоторой конкретной ситуации. Соответственно, применительно к проблеме создания научных основ метрологического обеспечения НМС, это означает, что, начиная с понятийно-терминологического базиса в данной области медицинской физики, следует учитывать не только все основные медико-биологические особенности объекта диагностики, как сложной и изменчивой во времени динамической системы, но и все особенности и ограничения методов и приемов проведения

диагностических обследований в клинике, особенности медицинской интерпретации диагностической информации, приемов выполнения диагностических обследований в клинике т.д.

В силу существующей сегодня переходной и спорной ситуации с метрологической терминологией, возникшей в результате введения межгосударственных рекомендаций [10, 32] взамен успешно применявшихся ранее у нас в стране национальных ГОСТов [9, 31 и др.], имеет смысл в рамках описания методов и подходов сразу уточнить и позицию авторов по поводу использования понятий *погрешность* и *неопределенность* результатов измерений¹. Придерживаясь, как указано выше, операционального подхода к задачам метрологии, нам представляется более взвешенной позиция автора статьи [33]. Он достаточно убедительно обосновывает необходимость использования термина *погрешности измерений* при анализе и для описания причин неточности результата, скрытых в инструментальных и методических несовершенствах приборной базы измерений и методик проведения измерений, а параллельно с ним понятия *неопределенности результатов измерений*, если речь идет об анализе величин и доверительного интервала конкретных измеренных в эксперименте данных в той или иной реальной измерительной задаче.

Соответственно, при описании результатов испытаний, оценивающих метрологические параметры измерительных приборов и устройств, а также методик измерений в целом, мы использовали в проекте (и в отчете) классическое понятие погрешности измерений, инструментальной погрешности, например. При описании же конкретных диагностических данных в клинике и оценке доверительного интервала для вычисляемых медико-биологических параметров конкретного пациента при выдаче ему окончательного диагностического заключения мы в МОНИКИ используем новую терминологию неопределенности результатов измерений. При этом неопределенность клинических результатов, понятно, не может быть меньше совокупности основных случайных и систематических погрешностей диагностики, источниками которых являются физическая основа метода, конкретная его приборная реализация и заложенные в прибор вычислительные алгоритмы. Однако она может в общем случае превышать их на величину дополнительных инструментальных и методических погрешностей, порождаемых особенностями условий (маршрутов) обследования пациента в клинике, разной квалификацией медицинского персонала и возникновением так называемой *интерактивной составляющей погрешности* (см. раздел 5), обусловленной особенностями взаимодействия датчика прибора с объектом диагностики.

В целом в проекте рассматривалась следующая измерительная задача (рис. 3.1). Диагностическая информация об обследуемом биологическом объекте (БО) снимается посредством использования метода оптического спектрального зондирования [34]. Используется активный метод зондирования. Оптические источники подсветки БО внутри диагностического прибора, обладая соб-

¹ Ранее у нас в стране использовалось понятие погрешности измерений. Сегодня международные стандарты требуют использования вместо погрешности термина неопределенность результатов измерений.

ственной мощностью излучения $P(\lambda)$, создают потенциальный материальный носитель информации об объекте – исходный оптический сигнал $S(x,y,\lambda,t)$, где x и y – пространственные координаты по поверхности БО, λ – длина волны излучения, t – время. Обследуемый БО за счет своих оптико-физических свойств, связанных с особенностями анатомо-морфологического строения и биохимического состава тканей, кодирует исходный зондирующий сигнал некоторой безразмерной функцией кодирования $B(\lambda)$, в общем случае не стационарной², производя преобразование исходного сигнала $S(x,y,\lambda,t)$ во вторичный сигнал $S^*(x^*,y^*,\lambda^*,t^*)$ и меняя его основные информационные параметры – спектральную плотность мощности, форму и длительность импульсов, глубину амплитудно-частотной модуляции и т.п. Задача диагностического прибора (средства измерения медицинского назначения – СИМН) – собрать достаточный по мощности вторичный кодированный оптический сигнал $S^*(x^*,y^*,\lambda^*,t^*)$, очистить его от возможных внешних помех и шума, и, имея информацию о $S(x,y,\lambda,t)$, определить (вычислить) все существенные оптико-физические и медико-биологические свойства БО, вызвавшие конкретное зарегистрированное кодирование сигнала.

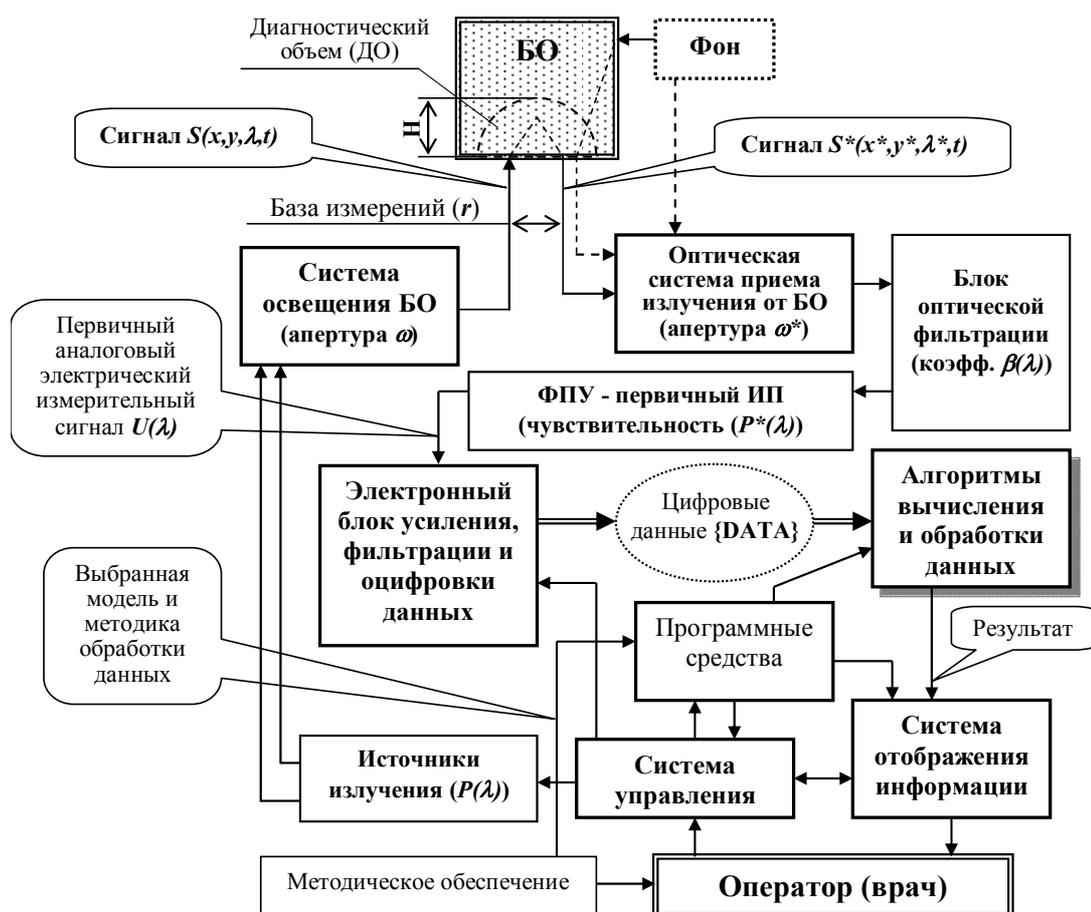


Рис. 3.1. Формальное предметное представление измерительной задачи.

² Т.е. плавно или ритмически меняющейся во времени.

Каждый из обозначенных на рис. 3.1 узлов и блоков прибора рассматривался нами в качестве потенциального источника ошибок и погрешностей диагностики. Все измерения по схеме рис. 3.1 носят косвенный, многоступенчатый и динамический характер [35], поэтому вопрос об источниках возникновения инструментальных и методических погрешностей диагностики (как случайных, так и систематических) оказывается достаточно сложным и многоплановым. Положение осложняется еще и тем, что сегодня для НМС, как уже указывалось выше, ни в одной стране мира не существует никаких образцовых средств измерений, аттестованных рабочих мер и эталонов измеряемых величин, аттестованных методик работы с живым объектом измерений и т.п. Поэтому классическая оценка точности измерений по эталонам каждым из появляющихся новых приборов и методов в НМС пока невозможна. Все исследования приходится проводить по создаваемым новым, оригинальным авторским методикам, используя лишь качественные аналогии с известными методами классической метрологии.

Все исследования в проекте проводились с использованием трех основных диагностических технологий в НМС – оптической тканевой оксиметрии (ОТО), лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД). В исследовании были задействованы 3 образца оптических тканевых оксиметров «Спектротест», два лазерных доплеровских прибора серии «ЛАКК-01» и «ЛАКК-02» с каналами красного ($\lambda=632$ нм) и инфракрасного ($\lambda=810$ нм) диапазона длин волн соответственно, многофункциональный анализатор капиллярного кровотока для врача общей практики «ЛАКК-ОП», многофункциональный лазерный диагностический комплекс «ЛАКК-М» и система лазерной флуоресцентной диагностики «ЛЭСА-01 Биоспек». Для исследования вклада в инструментальные погрешности особенностей конструкции световодов, используемых в качестве оптических зондов в диагностических комплексах «ЛАКК-М» и «ЛЭСА», были дополнительно для этих комплексов изготовлены 3 сменных комплекта световодов. Такой большой набор диагностического оборудования был необходим для поиска закономерностей и источников возникновения погрешностей диагностики, присущих не одному какому-либо конкретному прибору (конкретной реализации прибора) или методу, а именно классу данных приборов, реализующих разными способами и в разных инструментальных версиях разные методы НМС.

Во всех используемых методах и экспериментах анализировались как конечные медико-биологические параметры, косвенно регистрируемые и вычисляемые каждым прибором (или врачом) по результатам диагностических обследований, так и все первичные физические сигналы и данные, непосредственно регистрируемые прибором при измерениях. Это позволяло дифференцировать инструментальные погрешности «железа» и методические погрешности алгоритмов обработки данных.

Так, в случае ОТО анализируемыми физическими параметрами были сигналы с фотоприемников в милливольтгах (мВ) в различных спектральных диапазонах длин волн (в зеленом (V_G),

красном (V_R) и ближнем ИК (V_{IR}) диапазонах) и относительные стационарные функции кодирования $B_{отн}(\lambda_i)$, измеренные по отношению к «эталонной» функции $B_{эм}(\lambda_i)$ от белой, предположительно «идеально» рассеивающей свет рабочей имитационной меры (РИМ), отдельно разработанной для этой цели [35]. Определение $B_{отн}(\lambda_i)$ проводилось по формуле:

$$B_{отн}(\lambda_i) = \frac{V_{им}(\lambda_i)}{V_{эм}(\lambda_i)} \cdot B_{эм}(\lambda_i) , \quad (3.1)$$

где: $V_{им}(\lambda_i)$ – напряжение с фотоприемника для спектрального канала λ_i при измерениях с РИМ, $V_{эм}(\lambda_i)$ – то же, но при измерениях с белой светорассеивающей РИМ, $B_{эм}(\lambda_i)$ – функция кодирования «идеальной» светорассеивающей «эталонной» меры. Анализируемыми конечными медико-биологическими данными для метода ОТО были вычисляемые параметры тканевой сатурации оксигемоглобина смешанной периферической крови (S_tO_2), объемного кровенаполнения мягких клеточных тканей (V_b) и, в ряде экспериментов, индекса содержания меланина (Me).

Для метода ЛФД анализируемыми физическими параметрами были регистрируемые амплитуды (спектральные плотности мощности) обратно рассеянного излучения на длине волны источника возбуждения (лазера) I_l и в максимуме спектра флюоресценции I_f для разных длин волн возбуждения и регистрации флюоресценции с учетом приборного коэффициента $\beta(\lambda_i)$ (см. рис. 3.1). Конечный медико-биологический параметр в ЛФД для каждой выбранной области флюоресценции и длины волны флюоресценции - модифицированный коэффициент флюоресцентной контрастности K_f , определяемый по формуле:

$$K_f = 1 + (\beta \cdot I_f - I_l) / (\beta \cdot I_f + I_l) , \quad (3.2)$$

где $\beta \approx 1000$ – коэффициент ослабления обрезавшего оптического фильтра (приборный коэффициент). Коэффициент K_f косвенно характеризует уровни накопления активных флюорофоров в толще тканей БО и является сегодня достаточно «стандартным» уже диагностическим критерием в практике МОНИКИ.

В методе ЛДФ, в основном, анализировался в проекте только конечный медико-биологический показатель перфузии тканей кровью (*индекс микроциркуляции I_m*) на длинах волн зондирования 632 и 810 нм, отражающий общее количество эритроцитов в зоне обследования, умноженное на среднюю скорость их движения в микроциркуляторном русле биоткани. При проведении в клинике функциональных нагрузочных проб на систему микроциркуляции крови (дыхательная проба, холодовая проба, проба с окклюзией, проба Ашнера и т.п.) с контролем микроциркуляции методом ЛДФ дополнительными анализируемыми параметрами были вычисляемые стандартные медицинские показатели по результатам каждого функционального теста – резерв капиллярного кровотока (РКК) в случае пробы с окклюзией, индекс дыхательной пробы (ИДП) в случае проведения дыхательной пробы и т.д. [3].

Вся экспериментальная часть работ по проекту была разбита на три этапа.

На первом этапе ключевые вопросы метрологических характеристик методов и приборов НМС изучались в лабораторных условиях на специально созданных для этих целей авторских модельных образцах светорассеивающих, люминесцирующих и поглощающих свет рабочих имитационных мерах (РИМ). Для этого одним из отдельных направлений исследований на первом этапе явился поиск путей создания простых, эффективных и детерминированных (предсказуемых) по своим оптическим характеристикам РИМ, адекватно имитирующих светорассеивающие (светопоглощающие, люминесцентные и др.) оптические свойства объекта диагностики в различных клинических ситуациях. Основное внимание здесь уделялось вопросам создания таких экспериментальных РИМ для настройки, поверки и калибровки приборов НМС, которые могли бы быть в дальнейшем легко стандартизованы и воспроизводимы по своим оптическим свойствам. После создания таких РИМ, формально, на этом этапе исследований в схеме измерительной задачи рис. 3.1 БО заменялся на эти, условно образцовые, не биологические РИМ, предположительно идеально имитирующие оптико-физические свойства БО и не вносящие каких-либо еще дополнительных случайных и методических погрешностей в процесс диагностики (предположение об идеальности метрологических характеристик используемых РИМ). Далее, путем проведения многократно повторяемых статистических испытаний (измерений) на одних и тех же «образцовых» РИМ разными типами приборов, разными однотипными приборами из одной опытной партии приборов, одним и тем же прибором, но с разными волоконными оптическими зондами и т.д., вычленились и изучались наиболее существенные инструментальные и методические различия, ошибки и погрешности результатов измерений, вызываемые несовершенством или спецификой конструкции того или иного прибора или его отдельного конструктивного блока. Для этого по результатам испытаний оценивались в каждой серии из s идентичных³ по мнению экспериментатора измерений (обычно s варьировалось от 10 до 50) среднее арифметическое значение M_s каждого из регистрируемых физических или медико-биологических (в данном случае имитируемых РИМ) диагностических параметров, эмпирическое среднее квадратичное отклонение σ (СКО) в серии и разброс δ (коэффициент вариации) результатов измерений по уровню σ в процентах от измеряемой величины:

³ Отсутствие аттестованных и образцовых СИ в НМС не позволяет, конечно, сегодня в полной мере грамотно выполнять все классические требования и правила проведения таких измерений, например, требования по однородности проводимых измерений. Более того, ограниченное финансирование, выделяемое РФФИ на такие исследования, не позволяет в полной мере провести и масштабные исследования с выполнением большого количества испытаний в серии, необходимых для оценки в каждой серии вероятностных законов распределения регистрируемых величин, параметров равномерности результатов измерений и пр. Поэтому в данной работе, где это не представлялось возможным, оценка на однородность и равномерность результатов измерений от серии к серии не проводилась, а принималось в качестве постулата, что проводимые измерения являются однородными (равномерными) и все получаемые результаты можно сравнивать между собой и с результатами других серий измерений по другим методикам.

$$\delta = (\sigma / M_s) \cdot 100\% . \quad (3.3)$$

Далее эти результаты сравнивались с аналогичными результатами других серий испытаний, а различия в δ анализировались на предмет их методических или инструментальных причин (как случайных, так и систематических). Дополнительно, где это было возможно, в ряде серий экспериментов проводилась проверка на однородность результатов измерений, а также оценивался характер распределения (статистического закона распределения) результатов измерений. Влияние нестабильности мощности излучателей, прогрева электронных компонентов прибора и т.п. оценивалось долговременным динамическим замером показаний с РИМ с закрепленным на ней неподвижно оптическим датчиком. Методические погрешности, связанные с неоднозначностью фиксации датчика прибора на объекте исследований, особенно оптических волокон, изучались методом перемещения датчика по поверхности меры, наклоном, вращением и т.п. в сравнении с данными при его фиксированном и строго определенном положении. Долговременная воспроизводимость результата изучалась проведением повторных исследований с интервалом через день, месяц, два и три месяца. Систематические погрешности (смещения) результатов измерений каждым отдельным прибором в серии оценивались сравнением средних измеренных с РИМ значений всех регистрируемых физических и медико-биологических параметров этим прибором со средними значениями этих параметров для каждой РИМ, усредненными по всем тестируемым приборам во всех сериях измерений с этой РИМ. Т.е. на первом этапе исследований основное внимание уделялось источникам возникновения и уровням случайных и систематических, инструментальных и методических погрешностей и разбросов результатов измерений с точки зрения, в первую очередь, чисто физико-технических и приборных проблем.

Второй этап экспериментальных исследований был посвящен вопросам изучения источников возникновения и уровней случайных и систематических, приборных и методических погрешностей НМС в натуральных условиях проведения диагностических процедур в клиниках с участием добровольных здоровых испытуемых и испытуемых с различными нозологическими формами заболеваний из числа пациентов МОНИКИ (институт имеет разрешение Этического комитета и соответствующую лицензию на такие НИР). Этот этап был нацелен на выявление медико-биологических причин и источников возникновения погрешностей диагностики. С участием добровольных испытуемых также методом многократно повторяемых измерений с одной и той же анатомо-топографической области обследования для каждого испытуемого, путем проведения измерений одних и тех же параметров разными приборами из одной опытной партии приборов, одним и тем же прибором, но с разными оптоволоконными зондами и т.п. определялся, также как и на первом этапе исследований, статистический разброс и погрешности результатов измерений, но уже в условиях клиники и биологического объекта наблюдения. Влияние отсутствия стандартизованных методик и маршрутов обследования пациентов на достоверность, сходимость и воспроизводи-

мость результатов диагностики в НМС оценивалось проведением с одними и теми же испытуемыми одних и тех же исследований медицинским персоналом разной квалификации в области НМС. Скажем, часть измерений предлагалось провести медперсоналу, имеющему многолетний опыт работы с подобными приборами и методиками в МОНКИ, в том числе опыт выполнения диссертационных научных исследований по тематике НМС, а часть – молодым врачам и аспирантам, которым давались минимально необходимые и расплывчатые указания. При этом оценивалась сравнительная воспроизводимость, информативность и достоверность интерпретации полученных результатов у первой и второй групп исследователей. Часть результатов была получена с аспирантами при выполнении ими сначала не регламентированных исследований, а затем исследований по заранее четко прописанному и регламентированному диагностическому алгоритму.

Дополнительно в 2010г. в связи с выявлением проблемы сильного влияния индивидуального физиологического разброса параметров микроциркуляции крови в норме на информативность и интерпретацию результатов диагностики в НМС, было проведено еще две серии исследований на основе методов ЛДФ и ОТО. Первая часть исследований носила оригинальный ретроспективный характер и касалась сбора и анализа диагностических данных для одного из авторов, полученных на анализаторах серии ЛАКК-01-02 и оксиметрах «Спектротест» в течение последних 6 лет. При этом не существовало строгой последовательности и периодичности этих измерений, просто время от времени с автора записывались данные в покое или при выполнении разных нагрузочных функциональных тестов в тех или иных исследовательских и/или демонстрационных целях. Эта часть исследований позволила проанализировать долговременную вариабельность параметров микрогемодинамики и транспорта кислорода в системе микроциркуляции крови у одного испытуемого на отрезке времени в 6 лет при случайной выборке момента времени проведения измерений. Вторая серия исследований была направлена на изучение кратковременного физиологического разброса показателей у других испытуемых (несколько человек) непрерывно в течение 50 дней, ежедневно в одно и то же время (10 часов утра), чтобы исключить влияние циркадных ритмов кровообращения на результаты эксперимента. Исследования проводились на новом многофункциональном приборе «ЛАКК-ОП», имеющим однозначно фиксируемый оптический датчик на теле пациента, для исключения влияния положения датчика и условий его крепления на результаты измерений. Датчик устанавливался на второй палец левой руки, и все показатели записывались с ладонной поверхности дистальной фаланги пальца. Записывались данные микроциркуляции в состоянии покоя (режим «фоновая запись» продолжительностью 6 минут), в режиме «дыхательная проба» (запись показателей при кратковременной задержке дыхания в течение 15 секунд), а также окклюзионная проба с пережатием плечевой артерии (длительность окклюзии 3 минуты). По окончании экспериментов вычислялись средние значения каждого диагностического показателя и

их среднеквадратическое отклонение, а также определялся закон распределения каждой из измеряемых величин.

Сравнительный анализ 1-го и 2-го этапов экспериментальных исследований позволил в итоге вычлениить, систематизировать и проанализировать все основные физические и медико-биологические механизмы, факторы и явления, наиболее сильно влияющие на метрологические характеристики методов и приборов в НМС. В результате этого анализа была вычленена и проблема множественности флюорофоров тканей человека и животных и, соответственно, проблема интерпретации (или ошибок интерпретации) суммарных спектров флюоресценции тканей *in vivo* в терминах отдельных накопленных в тканях веществ. Эта проблема в постановочном плане рассматривалась на третьем этапе экспериментальных исследований с использованием лабораторных животных вивария МОНИКИ. Регистрировались сигналы эндогенной флюоресценции на хвосте белых мышей и крыс в синей, зеленой и красной областях спектра при питании животных различными кормами с разным содержанием порфирина, витаминов В₁₂ и В₆, витамина А, кератина и т.п. Анализировалось изменение спектров флюоресценции тканей животных по мере потребления ими маркерных веществ и возможность количественной интерпретации содержания этих веществ в тканях с определением существующих разбросов и погрешностей измерений, в т.ч. и путем проведения многократно повторяемых идентичных измерений персоналом разной квалификации.

Теоретический раздел исследований в проекте был посвящен, в первую очередь, решению задачи изучения феномена *диагностического объема* в НМС. На основе имевшегося у коллектива научного задела по развитию методов теоретического описания и расчета поля излучения в случайно-неоднородных (светорассеивающих) биологических тканях и средах на основе модифицированной 2-х потоковой модели Кубелки-Мунка впервые была разработана строгая теоретическая модель для четкой формулировки понятия и описания свойств диагностического объема в НМС.

На заключительных этапах исследования был проведен статистический анализ и обобщение всей совокупности полученных результатов исследований, на основе которых были сформулированы рекомендации по базовым принципам комплексной организации метрологического обеспечения методов и приборов НМС, включая рекомендации по унификации и гармонизации понятийно-терминологического базиса в НМС. Такая комплексная метрологическая задача в современной НМС по оценкам участников проекта была поставлена и решена **впервые в мире**. Ее решение призвано расширить наши знания в этой области науки и медицинской техники и послужить далее научно-методологическим фундаментом при разработке и создании конкретного метрологического оснащения конкретных медицинских диагностических приборов и устройств данного класса.

4 ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ФИЗИКО-ТЕХНИЧЕСКОГО ЭТАПА ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1. Разработка общих принципов построения РИМ

Согласно классическим канонам современной метрологии одним из важнейших элементов системы метрологического обеспечения в НМС должны являться стандартизованные по своим оптическим свойствам и легко воспроизводимые первичные эталонные (а также вторичные, рабочие и т.д.) меры, имитирующие, хранящие и передающие спектральные оптические свойства биологических тканей человека с тем или иным набором медико-биологических параметров, оцениваемых в НМС (разными уровнями артериальной и венозной сатурации оксигемоглобина в крови, разными уровнями объемного кровенаполнения биоткани и т.п.). Хотя большинство приборов в НМС классифицируются сегодня как приборы *индикаторного типа* [35], тем не менее, даже для таких приборов необходимо наличие *имитационных мер* (ИМ) для их градуировки, калибровки и поверки. Такие ИМ позволили бы врачам убедиться в работоспособности приборов в условиях клиники, а производителям диагностического оборудования - выпускать однотипные приборы с однотипными функциями преобразования и минимальным разбросом в регистрируемых показателях от прибора к прибору.

При проведении медицинских диагностических обследований, как показывают результаты последних исследований [34], тестируемый биологический объект (БО) с точки зрения структурно-функциональной модели диагностического процесса в НМС может быть представлен спектрально-нелинейным оптическим фильтром и источником собственного флюоресцентного излучения, который преобразует падающую на него плотность мощности $P(x, y, \lambda, t)$ зондирующего излучения в плотность мощности вторичного (обратно рассеянного) излучения $P^*(x^*, y^*, \lambda^*, t)$ с БО, где: x, x^*, y и y^* – координаты по поверхности БО, λ, λ^* - длины волн излучения, t - время. Это равнозначно кодированию исходного оптического сигнала некоторой безразмерной функцией кодирования B :

$$P^*(x^*, y^*, \lambda^*, t) = B(x \rightarrow x^*, y \rightarrow y^*, \lambda \rightarrow \lambda^*, t, \{m_j(t)\}) \cdot P(x, y, \lambda, t), \quad (4.1)$$

где: $\{m_j(t)\}$ – массив медико-биологических и оптико-физических параметров БО, влияющих на функцию кодирования.

При этом оптическая схема регистрации излучения от БО любого прибора НМС собирает в некотором телесном угле ω^* (апертуре) исходящее от БО и распределенное по его поверхности вторичное излучение P^* , преобразует его в мощность $W^*(\lambda^*, t, \{m_j(t)\} \dots)$ и доставляет ее в блоки обработки оптических сигналов и преобразования оптических сигналов в электрические и, далее, в цифровые. Таким образом, на вход функционального преобразователя, реализуемого сегодня, как правило, программными средствами, любого типового прибора НМС поступает в общем случае

цифровой электрический сигнал, пропорциональный общей мощности излучения W^* (без учета помех и фона):

$$W^*(\lambda^*, t, \{m_j(t)\}, \dots) = \int_0^{\omega^*} P^*(x^*, y^*, \lambda^*, t, \{m_j(t)\}, \dots) d\omega. \quad (4.2)$$

Анализируя (4.1) и (4.2), можно показать, что в этом диагностическом процессе в смысле физики формирования регистрируемых сигналов нет никакой разницы, обладает ли некоторой функцией кодирования B живой БО, или ей обладает некий неживой объект, в том числе и не биологический, если сам вид функции B будет одним и тем же. Эти теоретические соображения могут быть положены в основу построения разных ИМ, представляющих собой физические (не биологические) среды и устройства, моделирующие (имитирующие) разные функции B БО в разных клинических ситуациях. По сути же, в смысле классической теории измерительных приборов и устройств, такие ИМ *предназначены для хранения, воспроизведения и передачи физической величины функции B* , соответствующей разным медико-биологическим параметрам БО в разных ситуациях нормы или патологии.

Существенным недостатком большинства известных из литературы оптических ИМ для НМС является то, что их точное повторение (воспроизведение) в других условиях и другими изготовителями сильно затруднено из-за их уникальной и неоднозначной авторской конструкции (используются различные редкие и опытные порошковые и композиционные материалы, жидкие наполнители собственного приготовления, красители и т.п.). Для достижения приемлемой точности и повторяемости оптических свойств той или иной композиции необходимо строго соблюдать химическую чистоту исходных веществ, их концентрации, соотношения в композиции, температурные, временные и другие технологические параметры ее приготовления. Жидкие растворы красителей в композиции склонны к высыханию с течением времени, а это ставит под вопрос долговременную стабильность оптических свойств таких ИМ. Кроме того, большинство из этих промышленно выпускаемых исходных веществ не стандартизовано сегодня промышленностью по своим оптическим свойствам, что приводит к дополнительной необходимости их входного контроля и отбора всех исходных веществ по их оптическим свойствам. А это существенно усложняет и удорожает весь процесс создания этим способом конечной продукции в виде рабочих ИМ.

Поэтому, в целях поиска путей создания простых, легко воспроизводимых и детерминированных (стандартизованных) по своим оптическим свойствам ИМ в ходе выполнения проекта были проанализированы разные варианты использования в конструкциях мер разных стандартных оптических конструкционных материалов и сред. Наиболее дешевым, доступным и легко обрабатываемым светорассеивающим материалом, достаточно адекватно и стабильно воспроизводящим светорассеивающие свойства биотканей в диапазоне длин волн 0.4 - 2 мкм был признан фторопласт ФТ-4М по ГОСТ 14906-77. Этот материал не поглощает воду, химически стоек ко всем ще-

лочам и кислотам, обладает высокой теплостойкостью и т.д. Соответственно, он может быть использован в качестве базового материала для создания основы конструкции ИМ в НМС. Стандартизованные, спектрально не селективные и селективные по поглощению, рассеянию и флюоресценции оптические свойства имеют также цветные и матовые стекла, керамика и некоторые полимерные пленки. Однако цветные и матовые стекла, также как и керамика, по своим оптическим свойствам стандартизованы лишь для фиксированного набора геометрических размеров и толщины, а их обработка, особенно до толщин в десятки микрон, имитирующих ряд слоев кожи и слизистых оболочек органов БО, достаточно сложна. Поэтому наш выбор пал на тонкие полимерные оптические пленки марок “e-color +” и “supergel” (www.rosco.com) производства фирмы “Rosco”. Эти пленки выпускаются серийно листами, толщиной 50-70 мкм, с разными спектральными оптическими свойствами по поглощению, рассеянию и флюоресценции, что позволяет компоновать из них по типу «слоеного пирога» различные варианты имитационных сред для, фактически, любых практических приложений в НМС.

Предложенная унифицированная конструкция рабочих ИМ на их основе (рис.4.1) представляет собой основание (нижнюю часть корпуса) 1, выполненную из фторопласта, поверх которой слоями лежат светорассеивающие, светопоглощающие и флюоресцирующие под действием внешнего света полимерные пленки 2а, 2б, 2в... 2п, сверху прижатые к основанию фторопластовой крышкой 3 с центральным сквозным отверстием для оптического датчика прибора. Конструкция крышки 3 может быть дополнена фиксатором датчика прибора, чтобы получить однозначность позиционирования датчика в рабочем окне меры (см. рис. 4.2).

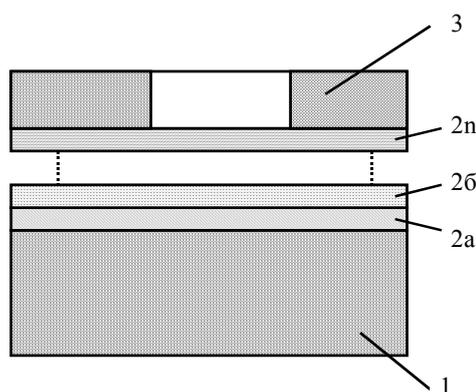


Рис. 4.1 Унифицированная конструкция разработанных имитационных мер.

Конкретный выбор состава и количества полимерных пленок в конструкции ИМ определяется конкретными задачами имитации тех или иных оптических свойств БО в тех или иных клинических ситуациях. В качестве примера можно указать используемые наборы пленок в разработанных рабочих ИМ для калибровки и поверки оптического тканевого оксиметра «Спектротест». Этот прибор определяет *in vivo* среднюю оксигенацию (сатурацию оксигемоглобина) смешанной

крови микроциркуляторного русла биоткани (S_tO_2), объемное кровенаполнение тестируемой области биоткани (V_b) и средний индекс ее меланиновой пигментации (Me). Соответственно, для целей калибровки и поверки приборов были разработаны три рабочие ИМ, имитирующие оптические свойства БО для трех разных вариантов сочетаний параметров S_tO_2 , V_b и Me . В качестве полимерных пленок в этих ИМ были использованы пленки из набора “E-colour+” № 188, 192, 205, 216. Внешний вид разработанных мер, способ фиксации рабочей головки прибора в мере, а также отдельные элементы ее конструкции приведены на рис. 4.2.



Рис. 4.2 Внешний вид и конструкция разработанных имитационных мер для калибровки и поверки неинвазивного тканевого оксиметра «Спектротест».

Воспроизводимость оптических свойств этих мер исследовалась путем изготовления трех «одинаковых» комплектов РИМ с использованием двух разных партий оптических пленок, полученных от фирмы-производителя с интервалом в 9 месяцев. Результаты замеров «медико-биологических» параметров с этих комплектов, выполненных контрольным измерительным прибором №0001, калиброванным по результатам экспериментально-клинических исследований⁴, представлены в Таблице 4.1. Все измерения проводились статистической серией по 5 измерений с последующим усреднением без какой-либо специальной предварительной подготовки, настройки или отбраковки мер, т.е. данные Таблицы 4.1 отражают возможность выполнить «с ну-

⁴ Также как и для оптических пульсоксиметров по [36] сегодня не существует на государственном уровне стандартизованного прямого метода калибровки СИ подобного типа. Единственными методами, применяемыми на практике, являются методы калибровки с использованием проб крови, взятых у добровольных испытуемых, и техники лабораторных клинических анализов, например, на оксиметрах настольного типа. Поскольку согласно [36] включение в стандарты и другую техническую документацию методов испытаний с использованием человеческого материала недопустимо, данный отчет не содержит описание таких испытаний. Для справки можно указать, что по данным сравнительных результатов лабораторного клинического анализа крови и показаний оксиметра настраивается и калибруется в клинике один, условно «контрольный» прибор. А с использованием уже этого «контрольного» прибора определяются показания с рабочих не биологических ИМ.

ля» все ИМ с идентичными оптическими свойствами, не прибегая ни к каким дополнительным специальным технологическим приемам или методикам.

Таблица 4.1

Сравнительные данные 3-х комплектов ИМ для оптической тканевой оксиметрии.

№ ИМ и комплект	$S_{O_2}/100\%$	$V_b/100\%$	Me
№1, комплект 1	0.901	0.216	0.029
№2, комплект 1	0.546	0.028	0.026
№3, комплект 1	0.974	0.230	0.105
№1, комплект 2	0.900	0.220	0.029
№2, комплект 2	0.531	0.028	0.027
№3, комплект 2	0.961	0.229	0.110
№1, комплект 3	0.898	0.214	0.029
№2, комплект 3	0.554	0.029	0.027
№3, комплект 3	0.957	0.236	0.109

Как видно из представленных результатов, с разбросом $\pm 4...5\%$ (включая погрешности прибора) все изготовленные меры в каждом комплекте по всем имитируемым параметрам показывают примерно одинаковый результат, что можно уже признать вполне приемлемым для практики НМС. Последующие же работы по изучению источников возникновения погрешностей в РИМ показали (см. ниже), что примерно половину от общей величины указанной погрешности вносит основание-фторопласт и чистота обработки его внешней поверхности, а также еще 20-25% от этой величины погрешности вносит взаимная ориентация (поворот вокруг оси) пленок в собранной композиции. Осуществляя предварительную технологическую отбраковку фторопластовых оснований и юстируя пленки в композиции по показаниям контрольного прибора, можно добиться снижения разброса в показаниях с мер до $\pm 2...3\%$.

Износостойкость мер и долговременная воспроизводимость результата оценивалась на комплекте №1 изготовленных РИМ на протяжении 9 месяцев с общим количеством замеров с одной меры (с установкой и снятием датчика прибора) в 100 измерений. Достоверного изменения оптических свойств мер при этом обнаружено не было.

Аналогичные комплекты РИМ (10 комплектов) были разработаны и изготовлены для проведения исследований методом ЛФД и ОТО, включая их сочетанное применение, на multifunctional диагностических комплексах («ЛЭСА», «ЛАЗДИКОМ» и др.), где в качестве диагностического датчика используются оптические волоконные зонды – световоды (рис. 4.3). В этом случае РИМ должны моделировать с заданной точностью, помимо параметров метода ОТО, сигнал вынужденной флюоресценции эндогенных флюорофоров БО в разных спектральных диапазонах возбуждения и регистрации флюоресценции, а также опорный сигнал обратно рассеянного излучения лазера (линию обратного рассеяния в спектре), необходимый для количественной обработки результатов диагностики в ЛФД (см. рис. 4.4).

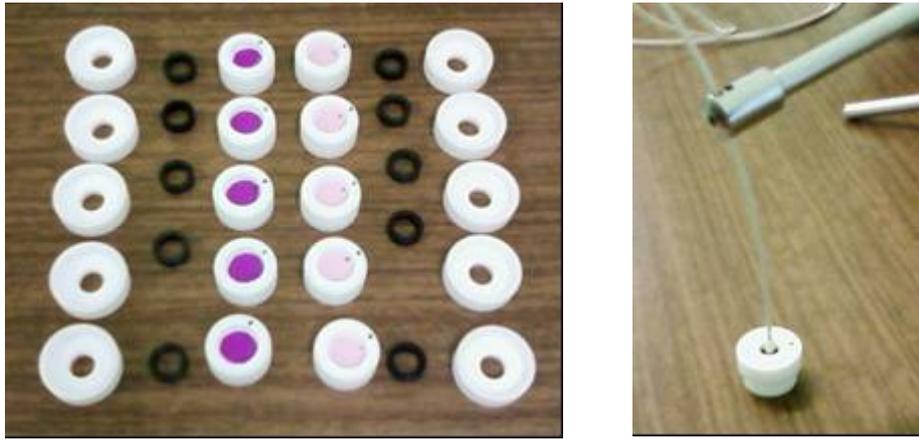


Рис. 4.3 Комплект РИМ для лазерной флуоресцентной диагностики.

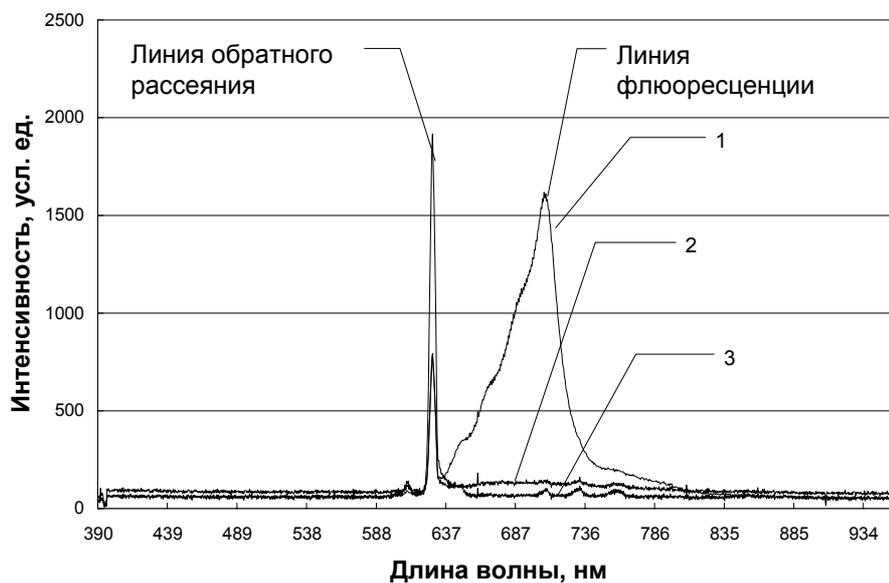


Рис. 4.4 Типовой исходный сигнал в лазерной флуоресцентной диагностике (ЛФД).
1, 2 и 3 – разная концентрация (по мере убывания) флуорофоров в толще ткани.
Возбуждение He-Ne лазером (632 нм), лазерная линия подавлена фильтром в $\beta \approx 10^3$ раз.

Идентичность параметров этих мер и воспроизводимость оптических сигналов с мер оценивалась аналогичным образом путем многократных замеров мгновенных значений максимумов сигналов в линии обратно рассеянного лазерного излучения (I_l) и в линии флуоресценции (I_f) для разных спектральных диапазонов длин волн возбуждения и регистрации флуоресценции. Для минимизации влияния систематических инструментальных погрешностей конкретного диагностического прибора на эти результаты, во всех экспериментах использовался один и тот же «контрольный» прибор, амплитуда полезных сигналов с эталонов по уровням превышала собственные шумы прибора в 50 и более раз, обеспечивалась максимально возможная стабилизация мощности зондирующего лазерного излучения, выдерживался рабочий прогрев прибора в течение 15-20 минут перед измерениями и т.д. В том числе использовался подход многократных (до 50) измерений с одной и той же РИМ с последующим усреднением результата.

Для исключения погрешностей, ошибок и промахов в результатах измерений, связанных с неоднозначностью позиционирования световода на рабочей площадке РИМ, световод диагностического комплекса в этих экспериментах жестко фиксировался в штативе перпендикулярно рабочей поверхности каждой меры (см. рис. 4.3 справа), а рабочий торец световода дополнительно оборудовался насадкой-подпятником (см. далее) и центрировался относительно угла поворота при всех измерениях идентичным образом на всех мерах.

Как указывалось выше, отдельно в эксперименте оценивался разброс в результатах 30 измерений I_l/β с фторопластовой подложки на выборке в 10 мер для разных длин волн с целью оценки влияния неоднородности оптических свойств фторопласта от меры к мере. Дополнительным изучаемым вопросом явился вопрос воспроизводимости методики и результатов статистических испытаний по сравнению с нашими предыдущими работами 10-летней давности [37]. Демонстрационные фрагменты полученных результатов представлены в таблицах 4.2 – 4.3.

Таблица 4.2

Разброс результатов измерений I_l/β для фторопластовых оснований ИМ на разных длинах волн.

№ меры	$\lambda=375\text{нм}$			$\lambda=532\text{нм}$			$\lambda=650\text{нм}$		
	M_{30}	σ	$\delta, \%$	M_{30}	σ	$\delta, \%$	M_{30}	σ	$\delta, \%$
1	487,5	18,3	3,8	1538,6	18,2	1,2	2524,9	29,6	1,2
2	490,8	8,4	1,7	1608,7	14,8	0,9	2540,7	25,6	1,0
3	453,1	3,0	0,7	1529,2	40,3	2,6	2461,5	25,2	1,0
4	466,2	2,5	0,5	1565,5	27,0	1,7	2517,7	33,0	1,3
5	506,9	8,6	1,7	1599,3	31,9	2,0	2554,7	43,5	1,7
6	476,6	9,4	2,0	1540,1	34,7	2,3	2538,5	44,6	1,8
7	472,5	8,4	1,8	1545,8	25,1	1,6	2498,7	57,1	2,3
8	467,6	3,2	0,7	1519,8	19,4	1,3	2515,7	26,8	1,1
9	479,1	10,5	2,2	1576,8	16,3	1,0	2510,1	40,2	1,6
10	490,2	6,0	1,2	1550,0	41,3	2,7	2622,2	39,3	1,5
В среднем по всем мерам	479,1	15,4	3,2	1557,4	29,6	1,9	2528,5	41,8	1,7

Таблица 4.3

Разброс результатов измерений I_l/β , $I\phi$ и K_f для РИМ, моделирующих флюоресценцию при возбуждении в линии $\lambda=375\text{ нм}$.

№ меры	I_l/β			$I\phi$			K_f		
	M_{30}	σ	$\delta, \%$	M_{30}	σ	$\delta, \%$	M_{30}	σ	$\delta, \%$
6	177,75	3,58	2,01	132,50	3,26	2,46	0,85	0,014	1,65
7	198,45	3,32	1,67	159,76	5,13	3,21	0,89	0,009	1,03
8	186,65	4,67	2,50	155,98	3,93	2,52	0,91	0,008	0,90
9	185,98	4,03	2,17	147,26	5,96	4,05	0,88	0,013	1,50
10	192,00	2,98	1,55	159,08	3,00	1,89	0,91	0,012	1,29
В среднем по мерам	188,20	7,70	4,09	150,90	11,40	7,55	0,89	0,022	2,47

Представленный фрагмент данных показывает хорошую воспроизводимость результата от меры к мере и увеличение разброса δ при уменьшении длины волны (Табл. 4.2). При принятии

среднего эмпирически полученного значения регистрируемой величины по всем мерам за *действительное значение этой регистрируемой величины* [35], относительная случайная погрешность определения, например, I_n/β на фторопластовых основаниях мер по M_n была зафиксирована в пределах $\pm 2...3\%$. Она увеличивалась до $\pm 4\%$ для полностью собранных РИМ с пленками (Табл. 4.3), а погрешность определения I_ϕ для данного комплекта мер и выбранных длин волн регистрировалась уже на уровне $\pm 7...8\%$, однако погрешность определения расчетной величины K_f для разных мер оставалась всегда в пределах $\pm 2...3\%$ ⁵. Этот результат полностью воспроизводит наши результаты 10-летней давности, и здесь уместно подчеркнуть, что параметр K_f и был 10 лет назад нами выбран в качестве наиболее метрологически надежного диагностического критерия, позволяющего уменьшить влияние случайных погрешностей диагностики на конечный диагностический результат в ЛФД.

4.2. Исследование погрешностей диагностики для разных приборов и методов на РИМ

В данном разделе исследований путем проведения сравнительных многократных статистических испытаний на одних и тех же РИМ разными типами приборов, разными однотипными приборами из одной опытной партии приборов (приборы «Спектротест») и т.д. была предпринята попытка вычленил от опыта к опыту наиболее существенные случайные и систематические различия в показаниях приборов, которые могли бы быть интерпретированы как случайные и/или систематические погрешности измерений (как инструментальные, так и методические), вызываемые несовершенством или спецификой конструкции того или иного прибора или блока (разные базы измерений r , разные источники излучения (лазеры, светодиоды), разная спектральная чувствительность ФПУ и т.п.).

В целом, средние значения случайного статистического разброса результатов измерений (коэффициента вариации) δ , которые могут быть интерпретированы в терминах случайных относительных погрешностей измерений в показаниях одного и того же прибора НМС при многократных статических измерениях на одной и той же РИМ, для большинства используемых методов и приборов НМС были нами зафиксированы на уровне не более $\pm 4...5\%$. Максимальный разброс при этом имели конечные медико-биологические показатели в методе ОТО при сравнительно низких разбросах в измеряемых первичных физических сигналах. Типовой фрагмент получаемых данных с РИМ №1 для технологии ОТО представлен в Таблице 4.4.

⁵ Аналогичные результаты того же порядка были получены в ходе выполнения проекта и для других ИМ, имитирующих эндогенную флуоресценцию других биологических флюорофоров для других длин волн возбуждения и регистрации флуоресценции. Всего по этому разделу исследований было проведено и обработано порядка 5000 статистических (многократных) измерений с разных мер и для разных длин волн.

Таблица 4.4

Статистический разброс результатов ОТО при единичных (мгновенных) измерениях одним и тем же оксиметром «Спектротест» №0030 на одной и той же ИМ №1-3.

Объекты исследования Прибор №0030	Параметр	Сигналы с фотоприемника, мВ			Функция $B_{отн}(\lambda)$			Вычисляемые медицинские параметры*, отн. ед.	
		V_G	V_R	V_{IR}	λ_G	λ_R	λ_{IR}	S_tO_2	V_b
Образцовая, рассеивающая свет мера	M_{10}	3364	2994	3308	1,0	1,0	1,0	-	-
Имитационная мера ИМ №1	M_{10}	437,9	1901	1746	0,131	0,639	0,525	0,914	0,231
	σ	7,818	19,61	13,95	0,004	0,007	0,006	0,032	0,007
	δ (%)	1,79	1,03	0,79	2,68	1,15	1,14	3,49	3,23

Примечания: *) Значения, деленные на 100%. Номинальные действующие значения этих параметров для ИМ №1-3, полученные на основе данных калиброванного по лабораторному анализу крови прибора (см. табл. 4.1 и сноску 4 на стр. 29): $S_tO_2=89,8\%$; $V_b=21,4\%$. Относительная погрешность (Δ) среднего в данной серии испытаний: $\Delta(S_tO_2)=1,8\%$; $\Delta(V_b)=7,9\%$

Эти данные наглядно позволили получить представление о том, какой вклад в суммарную погрешность результатов измерений вносят вычислительные алгоритмы приборов НМС. Для метода ОТО, например, вычислительные алгоритмы получения конечного медико-биологического результата (S_tO_2 , V_b и др.) носят на сегодняшний день наиболее сложный и многоступенчатый характер по сравнению с методами ЛФД и ЛДФ. Соответственно, можно видеть, что вычислительные алгоритмы способны увеличивать относительные погрешности и разброс результатов измерений в 2-3 раза по сравнению с погрешностями измерений функций кодирования $B_{отн}(\lambda)$ и исходных физических сигналов в измерительной системе. Т.е. они сегодня в ОТО являются *одним из основных источников возникновения ошибок и погрешностей диагностики*.

Кроме того, очевидно, что эти погрешности алгоритмов напрямую зависят от выбранной физико-математической модели измерительного процесса и конкретной методики обработки данных. Однако в схеме измерительного процесса рис. 3.1, после блока получения цифрового массива данных {DATA}, все последующие системные и программные средства измерений в полной мере можно рассматривать просто как средства обработки цифрового сигнала, вносящие лишь методические погрешности в конечный диагностический результат. Т.е. расчетные алгоритмы в зависимости от выбранной физико-математической модели явления вносят в результат измерений лишь ту или иную систематическую методическую погрешность. Снижение этой погрешности возможно лишь по мере создания более совершенных и точных моделей и алгоритмов. Поэтому, в общем случае, любые детерминированные расчетные алгоритмы требуют не столько метрологической, сколько цифровой аттестации и поверки. Имеется в виду, что требование достижения заданной точности измерений, например, в НМС применительно к программным средствам равнозначно требованию использования тех или иных конкретных вычислительных алгоритмов и моделей. На

каждом этапе развития приборной базы измерений, особенно в такой молодой области как НМС, должны для этой цели существовать простые соглашения, какие модели и алгоритмы допустимы, а какие – нет. Цифровая же аттестация и есть простой способ проверки, какие же модели и алгоритмы «защиты» в данном конкретном приборе.

Существенное увеличение разброса в регистрируемых показателях на РИМ наблюдается при сравнительном анализе данных, получаемых на разных приборах, а также на одном и том же приборе (комплекс «ЛАКК-М») при использовании разных экземпляров оптических волоконных зондов. В качестве иллюстрации Таблица 4.5 содержит сравнительные данные показаний трех разных оксиметров «Спектротест» из одной опытной партии приборов с одной и той же РИМ №2-1.

Таблица 4.5

Разброс единичных (мгновенных) показаний трех разных оксиметров «Спектротест» с одной и той же статической ИМ №2-1.

Объект исследования ИМ №2	Параметр	Сигналы с фотоприемника, мВ			Функция $V_{omn}(\lambda)$			Вычисляемые медицинские параметры*, отн. ед.	
		V_G	V_R	V_{IR}	λ_G	λ_R	λ_{IR}	S_tO_2	V_b
Прибор № 0030	M_{10}	1863	2277	1865	0,554	0,761	0,564	0,601	0,027
Прибор № 0031	M_{10}	1807	2638	1965	0,523	0,731	0,557	0,587	0,031
Прибор № 0032	M_{10}	1841	2598	2196	0,570	0,747	0,566	0,511	0,023
В среднем по трем приборам	M	1837	2504	2009	0,549	0,746	0,562	0,566	0,027
	σ	28,17	197,9	169,8	0,024	0,015	0,005	0,049	0,004
	δ (%)	1,53	7,91	8,45	4,32	1,99	0,83	14,62	8,64

* Значения, деленные на 100%. Номинальные значения для ИМ №2-1: $S_tO_2=0,546$; $V_b=0,028$.

Таблица 4.6

Разброс данных ОТО комплекса «ЛАКК-М» с РИМ №2-3 при использовании трех разных экземпляров оптических волоконных зондов.

Объект исследования	Статистические параметры	Вычисляемые медицинские параметры, отн. ед.	
		$S_tO_2/100\%$	$V_b/100\%$
Зонд № 001	M_{50}	0,575	0,107
Зонд № 011	M_{50}	0,815	0,117
Зонд № 021	M_{50}	0,572	0,099
В среднем по трем зондам	M	0,654	0,108
	σ	0,139	0,009
	$\delta\%$	21,3	8,38

Таблица 4.6 в качестве примера содержит сравнительные данные канала ОТО комплекса «ЛАКК-М» с одной и той же РИМ №2-3 при использовании трех разных экземпляров оптических волоконных зондов из одной и той же опытной партии зондов⁶. Как видно из представленных примеров таблиц 4.5 и 4.6 разброс результатов измерений и оценки конечных медико-биологических параметров достигает в этих экспериментах величин порядка $\pm 10...20\%$, что становится соизмеримо с данными литературы по разбросам результатов измерений с живого БО. Причинами такого большого разброса, как показал последующий детальный анализ особенностей конструкции приборов «Спектротест» и оптических волоконных зондов, являются в случае приборов «Спектротест» несколько различающиеся спектральные характеристики чувствительности ФПУ и спектральные плотности мощности источников излучения, а для оптических волоконных зондов – небольшой разброс в значении базы измерений r и апертур ω и ω^* . Например, причиной явно выпадающих значений регистрируемых показателей для зонда №011 (Табл. 4.6) является отличие в базе r между приемным и освещающими волокнами в $\sim 20\%$ по сравнению с двумя другими экземплярами волоконных зондов. При этом в полном смысле этого слова (термина), отличие в результатах измерений на РИМ с использованием разных типов приборов и разных экземпляров оптических волоконных зондов, имеющих разброс в величине базы r и апертур ω и ω^* неправильно, видимо, было бы трактовать только как проявление искомым инструментальных погрешностей или ошибок измерений. Указанные конструктивные параметры приборов влияют на *эффективный диагностический объем* (ЭДО) обследуемого объекта (см. следующий п. 4.3), т.е. в данном случае наблюдаются не столько погрешности, сколько методически обусловленные различия в показаниях приборов, связанные с различием в формируемом ими в объекте ЭДО.

И наоборот. Различия в результатах измерений, вызванные различиями в спектральных характеристиках, как излучателей, так и фотоприемных устройств (ФПУ) разных экземпляров однотипных приборов и не связанные с формированием ЭДО, необходимо трактовать именно как проявление инструментальных погрешностей в НМС. Наиболее наглядный пример этому – пример регистрации спектров флуоресценции клеточных биологических тканей в методе ЛФД. Типовой регистрируемый спектр на комплексе «ЛАКК-М» с кожи пальца руки при возбуждении флуоресценции в диапазоне 375-380 нм представлен на рис. 4.5. Конструктивно блок регистрации спектров флуоресценции в комплексе выполнен на основе полихроматора со стандартной линейкой фотоприемников марки TCD1304AP [42] в качестве ФПУ. Весь регистрируемый спектр снимается этой линейкой на выходе полихроматора одномоментно. Он представляет собой суперпозицию спектров флуоресценции разных природных компонент биоткани, таких как коллаген, эластин, NADH и т.д. [17, 41], имеющих разные максимумы и интенсивности флуоресценции на разных

⁶ Предполагается, что конструктивно они должны быть идентичными, но, тем не менее, содержат некоторые технологические разбросы параметров апертур ω и ω^* , базы r и т.п. (см. рис.3.1).

длинах волн. Косвенно о присутствии в спектре разных составляющих биоткани говорит его «зубчатый» характер, по отдельным зубцам которого (по их наличию и амплитуде) и судят, как правило, о биохимическом составе ткани. На их основе в примере на рис. 4.5 приведена типовая (возможная) трактовка отдельных максимумов в спектре в терминах наличия в области обследования коллагена, NADH и флавопротеинов.

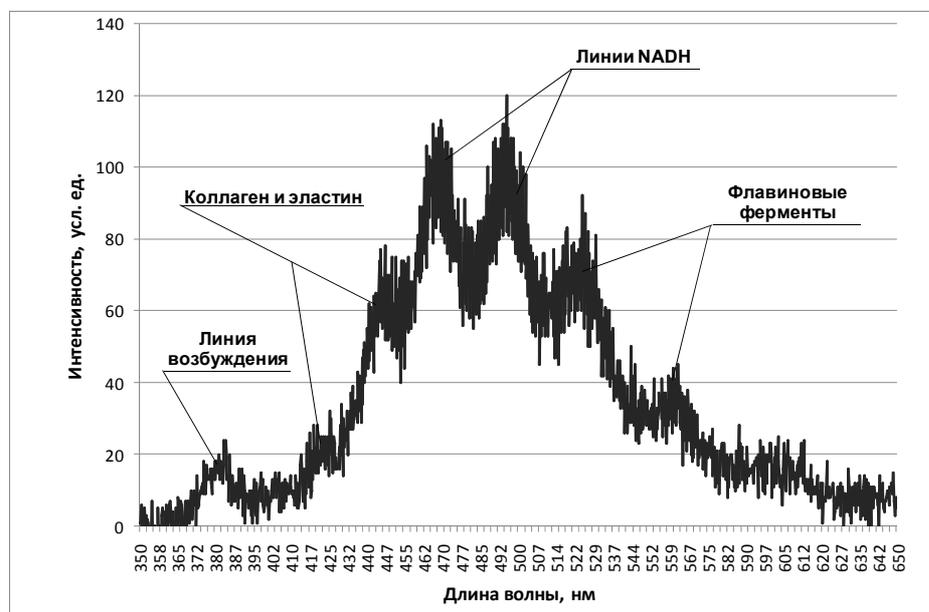


Рис. 4.5. Типовой спектр флуоресценции, регистрируемый *in vivo* с кожи подушечки пальца руки на комплексе «ЛАКК-М» при возбуждении флуоресценции в диапазоне длин волн 375-385 нм.

Однако этот «зубчатый» характер спектра может являться и следствием неравномерной спектральной чувствительности используемого многоэлементного ФПУ (линейки фотодиодов). Более того, у разных производителей могут использоваться в конструкции полихроматоров разные ФПУ, что приведет к уникальным «фирменным» искажениям исходной огибающей спектра, разным для разной конструкции прибора, и соответствующим методическим погрешностям в интерпретации биохимического состава ткани.

В подтверждение высказанных соображений рис. 4.6 воспроизводит измеренное отношение спектральных чувствительностей ФПУ двух однотипных полихроматоров разных производителей (Белоруссии и России). В среднем, чувствительность российского прибора оказывается в 6,5 раз выше аналогичного белорусского аналога. Однако заметно прослеживается на графике именно «зубчатая» неравномерность относительной спектральной чувствительности приборов. Именно она, например, может являться одной из причин известных расхождений в публикациях разных авторов по расположению максимумов спектров флуоресценции тех или иных эндогенных флуорофоров биотканей. Поэтому в НМС **неравномерность спектральной чувствительности ФПУ становится важной метрологической характеристикой, требующей соответствующего нормирования, поверки и стандартизации.**

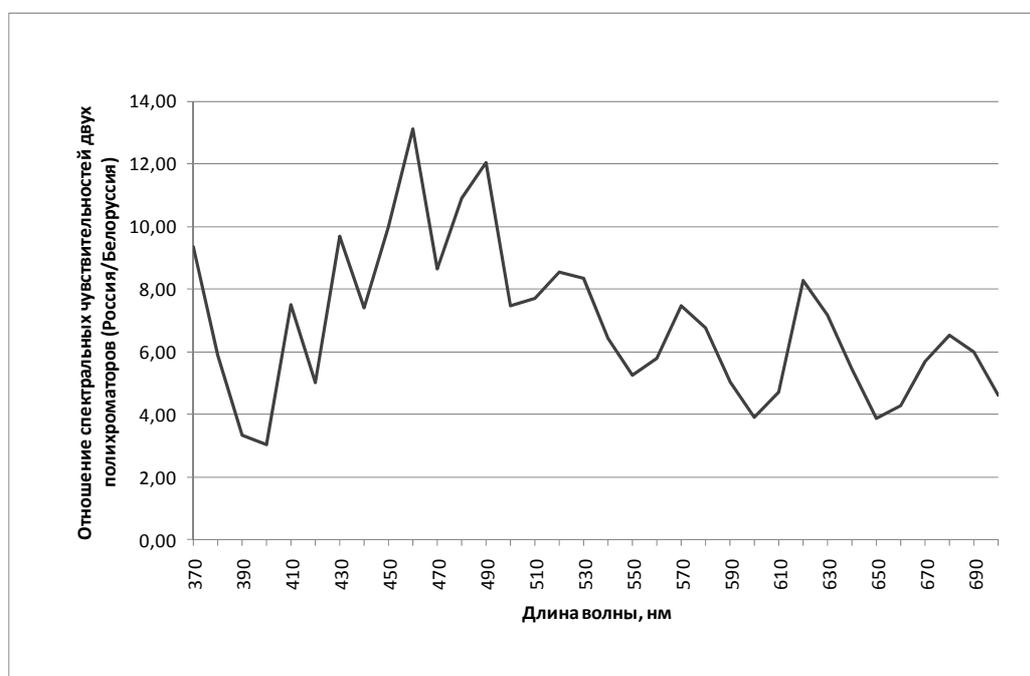


Рис. 4.6. Отношение спектральных чувствительностей двух полихроматоров двух разных производителей (Россия и Белоруссия)

Сильное влияние длин волн зондирующего излучения на результаты диагностики было отмечено для метода ЛДФ. В Таблице 4.7 приведен сравнительный анализ данных ЛДФ для прибора «ЛАКК-01», использующего He-Ne лазер (632 нм), и канала ЛДФ комплекса «ЛАКК-М» с полупроводниковым излучателем на 810 нм.

Таблица 4.7

Сравнительный пример данных ЛДФ на ИМ для разных приборов и режимов работы ИМ по имитации скорости кровотока

Режим работы ИМ по имитации скорости	Показания приборов (I_m), пф.ед. Усреднение за время 60 сек.	
	«ЛАКК-01»	«ЛАКК-М»
Режим № 1	37,2	58,4
Режим № 2	10,8	32,5

Влияние внешнего фона (освещения) и субъективных случайных погрешностей, связанных с неоднозначностью позиционирования оператором рабочего торца световода на поверхности РИМ, наглядно проявляется в лазерной флуоресцентной диагностике (ЛФД) при экспериментах с разными насадками-подпятниками на световод в сравнении с результатами статистических испытаний без использования подпятника. Разработанный подпятник, надеваемый на оптическое волокно (рис. 4.7 справа), служит для целей более воспроизводимого позиционирования рабочего торца волокна на поверхности РИМ, а также для целей экранировки попадания внешнего стороннего света в зону обследования (в ЭДО). Однако контактная с объектом нижняя плоскость подпятника может сама вносить дополнительную погрешность в измерения за счет возможного переотраже-

ния выходящего из РИМ (БО) наружу рассеянного излучения. Оценка влияния этого эффекта проводилась с использованием зеркально отражающего и «черного» подпятников. Таблица 4.8 содержит результаты этих статистических испытаний в области длины волны возбуждения флюоресценции 532 нм.

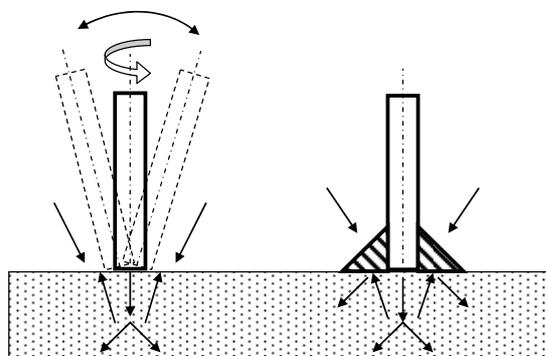


Рис. 4.7. Неоднозначность позиционирования оптического зонда (слева) и оптический зонд с экранирующим опорным подпятником (справа).

Таблица 4.8

Разброс результатов измерений I_l/β , $I\phi$ и K_f для ИМ №10 с флюоресценцией на $\lambda=532$ нм для ситуаций оптического зонда без подпятника, с зеркально отражающим и с «черным» подпятником.

Подпятник	I_l/β			$I\phi$			K_f^*		
	M_{25}	σ	$\delta, \%$	M_{25}	σ	$\delta, \%$	M_{25}	σ	$\delta, \%$
отсутствует	456,8	23,09	5,05	321,1	24,27	7,56	0,83	0,0367	4,45
зеркальный	465,7	10,33	2,22	313,8	7,23	2,30	0,81	0,0085	1,06
черный	448,9	11,04	2,46	282,5	7,00	2,48	0,77	0,0072	0,93

*) Принятое номинальное значение для ИМ №10 $K_f=0,78$.

Очевидно наличие влияния подпятника на результаты эксперимента. При его отсутствии неоднозначность позиционирования оптического зонда на РИМ приводит к увеличению относительного разброса вычисляемого K_f до $\pm 5\%$ и к достоверному ($p < 0.1$) увеличению среднего значения коэффициента K_f , видимо, за счет попадания фоновой засветки в диагностический объем РИМ. Наименьший разброс и значения K_f наблюдаются в случае использования черного, поглощающего свет подпятника. Зеркальный подпятник из-за переотражения излучения на контактирующей с ИМ плоскости также вносит погрешность в K_f , но не увеличивает существенно случайные погрешности (разброс) в его определении, т.е. эти погрешности, скорее всего, связаны с разным случайным позиционированием зонда.

При проведении измерений методом ЛФД большое влияние на определяемый K_f оказывает, как это вытекает из соотношения (3.2), и передаточная функция обрезаящего фильтра $\beta(\lambda)$. Ее влияние оценивалось в ходе исследований путем сравнения получаемых результатов с РИМ на двух диагностических системах «ЛЭСА-01 Биоспек» и «ЛАКК-М». Разброс результатов в определении K_f был получен для разных длин волн в пределах $\pm 30 \dots 40\%$. Это непозволительно много с

точки зрения воспроизводимости результата на разных приборах. Т.е. в случае серийного производства и внедрения в практику здравоохранения подобных диагностических систем, функция $\beta(\lambda)$ наряду с параметрами $P(\lambda)$, r , ω и ω^* должна являться одним из четко нормируемых и регламентируемых медико-технических параметров, строго выдерживаемая во всех однотипных приборах и комплексах.

4.3 Формулировка понятия диагностического объема в НМС

Если говорить о количественной регистрации методами НМС объемной концентрации различных биохимических веществ в толще ткани (гемоглобина крови, меланина, порфирина и т.д.), что составляет основной предмет исследования в НМС, то при проведении относительных (сравнительных) измерений на калибровочных РИМ, в области патологии и в выбранной реперной (интактной) точке на теле пациента, необходимо, чтобы глубина проникновения излучения в исследуемый объект была во всех этих ситуациях одна и та же. В крайнем случае, у врача должна быть возможность при каждом проводимом измерении оценивать тот эффективный объем биоткани, из которого приходит в систему регистрации основной полезный сигнал. Т.е. необходимо иметь возможность в эксперименте оценивать так называемый *эффективный диагностический объем* (ЭДО) исследуемого объекта. При развитии в тканях любых функциональных или физиологических изменений, вызванных заболеванием, их ЭДО будет меняться вследствие изменений оптических свойств крови, изменений в кровенаполнении в области обследования, изменений оптических свойств кожи и т.п. Поэтому оценка и определение ЭДО являются исключительно важными в практике НМС.

Сегодня понятие ЭДО не является пока еще строго определенным и общепринятым в биомедицинской оптике. Поэтому в рамках данного проекта и в ряде публикаций в качестве научного задела по проекту (например, [38]) оно было нами специально введено и определено. Понятие ЭДО определяется как *эффективный объем биологической ткани (среды распространения излучения) в зоне обследования, который вносит в регистрируемый оптический сигнал вклад по мощности излучения не менее P_{min} , где P_{min} оценивается по уровню 75-95% общей мощности регистрируемого от биоткани излучения* (оценка сигнала по уровню 0.75 ($P_{0.75}$), уровню 0.95 ($P_{0.95}$) и т.д.). Это определение потенциально позволяет в строгих терминах физико-математических моделей теории переноса и рассеяния света в мутных средах непосредственно вычислительными методами или по результатам эксперимента (а также диагностической процедуры в НМС) оценивать достигаемый в эксперименте ЭДО.

Для построения первой упрощенной теоретической модели, описывающей явление ЭДО в НМС, в рамках проекта была рассмотрена задача одномерного распространения оптического излучения в макрооднородной светорассеивающей среде с многократным рассеянием модифициро-

ванным методом Кубелки-Мунка (КМ) [39]. Формулировка задачи такова: найти такую эффективную толщину H среды распространения излучения с заданными транспортными оптическими свойствами $K=\mu_a$ и $S=\mu_s$ (поглощение и рассеяние в терминах модели КМ и общей теории переноса), с которой обратно рассеянное излучение $P_{min}(H)$, регистрируемое прибором НМС, составляет по мощности долю $\gamma=0.9-0.95$ от общей мощности обратно рассеянного излучения P_{BS} полубесконечной средой (средой с геометрической толщиной, существенно больше H). Т.е.:

$$P_{min}(H) = \gamma \cdot P_{BS}(\infty), \quad (4.3)$$

где: $P_{BS}(\infty)$ – общая мощность обратно рассеянного излучения полубесконечной средой.

В простейшем и наиболее наглядном случае предполагается отсутствие поглощения в среде ($K=0$). Тогда при единичном потоке внешнего освещения ($F_0=1$):

$$P_{BS}(\infty) = F_0 = 1; \quad S = R\mu_p / (1 - R), \quad (4.4)$$

где: R - коэффициент отражения излучения на границе неоднородностей в среде, μ_p - средняя погонная плотность неоднородностей в среде; а регистрируемая прибором мощность обратно рассеянного излучения с толщины H выражается в виде:

$$P_{min}(H) = F_0 \cdot SH / (1 + SH). \quad (4.5)$$

Откуда, объединяя (4.3), (4.4) и (4.5), легко получить:

$$H = \frac{\gamma}{S(1 - \gamma)}. \quad (4.6)$$

При типовых для биотканей значениях $R=0.02-0.05$; $\mu_p=50...1000 \text{ см}^{-1}$ и, соответственно, $S \approx 1...55 \text{ см}^{-1}$, эффективные значения H будут лежать в диапазоне 0.16-19 см. Необходимо особо подчеркнуть, что параметр S является функцией длины волны излучения λ , и поэтому в общем случае диагностики на разных длинах волн для каждой отдельной длины волны λ следует выделять и оценивать свой ЭДО.

Аналогичные оценки были проведены нами и в общем случае светорассеивающей среды с многократным рассеянием и поглощением. Опуская громоздкие промежуточные выкладки и выражая результат через погонные оптические свойства среды, приведем полученные конечные соотношения:

$$H = \frac{1}{2\alpha} \cdot \ln \left[\frac{\alpha(1 + \gamma)/(1 - \gamma) + \beta_1}{\alpha + \beta_1} \right], \quad (4.7)$$

где: $\alpha = \sqrt{\beta_1^2 - \beta_2^2}$;

$$\beta_1 = \omega \cdot \frac{\mu_a - \mu_p \ln(1-R) + \mu_p \ln(1 - \omega + \sqrt{\omega^2 - R^2 e^{-2\mu_a/\mu_p}})}{\sqrt{\omega^2 - R^2 e^{-2\mu_a/\mu_p}}}$$

$$\beta_2 = R \cdot e^{-\mu_a/\mu_p} \cdot \frac{\mu_a - \mu_p \ln(1-R) + \mu_p \ln(1 - \omega + \sqrt{\omega^2 - R^2 e^{-2\mu_a/\mu_p}})}{\sqrt{\omega^2 - R^2 e^{-2\mu_a/\mu_p}}};$$

$$\omega = \frac{1 - (1-2R) \cdot e^{-2\mu_a/\mu_p}}{2}.$$

Оценка величины H (ЭДО в одномерной задаче) в этом случае для разных сочетаний оптических свойств объекта диагностики несколько усложняется, однако современными вычислительными средствами она также может быть выполнена достаточно легко. Графики рис. 4.8 иллюстрируют фрагмент изменения величины H в зависимости от соотношений и значений параметров R , μ_a и μ_p при $\gamma=0.95$.

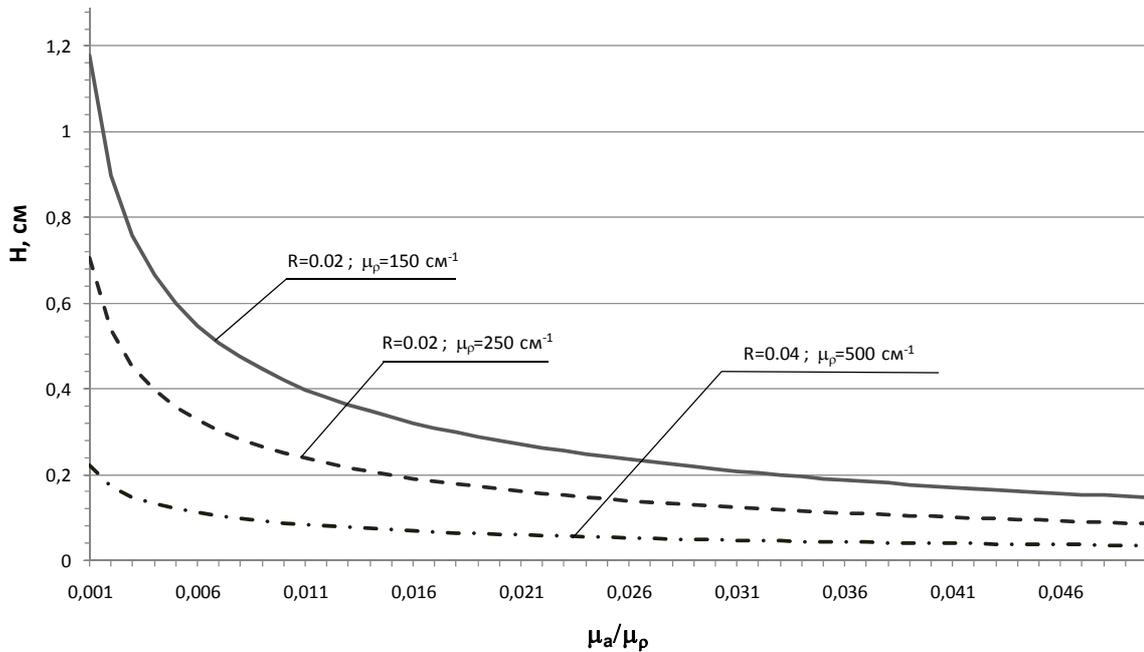


Рис. 4.8. Оценка величины H в одномерной задаче с многократным рассеянием и поглощением.

Как видно, присутствие поглощения в среде существенно уменьшает ЭДО. Если оценки параметров R , μ_a и μ_p априори не известны, единственным выходом из положения при определении ЭДО является оценка достигаемого ЭДО непосредственно по результатам эксперимента, но это не такая тривиальная задача, как может показаться на первый взгляд.

4.4 Выводы по результатам физико-технического этапа исследований

В целом, анализ совокупности полученных результатов исследований по данному разделу проекта позволил сформулировать следующие **основные выводы:**

Наиболее существенными источниками различий в показаниях приборов являются:

- номинальные (действующие) значения спектральной плотности мощности источников излучения $P(\lambda)$ и спектральной чувствительности ФПУ диагностического прибора;
- номинальные значения апертур ω , ω^* и базы r систем освещения и приема излучения;
- номинальное значение передаточной функции блока оптической фильтрации $\beta(\lambda)$;
- выбранная модель и алгоритм вычисления конечных медицинских показателей.

Наиболее существенными источниками возникновения основных случайных и систематических инструментальных погрешностей диагностики, обусловленных неидеальностью конструкции аппаратной части средств измерений, являются:

- случайный технологический разброс и нестабильность (например, температурная) номинальной спектральной чувствительности ФПУ;
- случайный технологический разброс и кратковременная нестабильность (на малых отрезках времени, соизмеримых со временем одной диагностической процедуры) номинальной спектральной плотности мощности источников излучения $P(\lambda)$;
- случайный технологический разброс параметров r , $\beta(\lambda)$, ω и ω^* от прибора к прибору;
- нестабильность во времени параметров r , $\beta(\lambda)$, ω и ω^* , например, вследствие загрязнения или износа оптических элементов конструкции прибора, в особенности рабочих поверхностей датчиков и зондов, контактирующих с объектом диагностики.

Главные источники дополнительных случайных и систематических погрешностей, возникающих дополнительно к основной погрешности:

- внешний оптический фон (свет) и паразитно рассеянный свет источников излучения диагностического прибора, попадающий в измерительный тракт прибора и ДО обследуемого объекта и меняющий рабочие условия измерений по режиму освещенности объекта.

Наиболее значимые случайные и систематические методические погрешности в НМС:

- выбранные модель и вычислительные алгоритмы обработки данных;
- субъективная погрешность позиционирования оператором датчика на объекте.

Влияние других погрешностей и физических помеховых факторов, например, электромагнитных наводок или погрешностей измерения и оцифровки первичных физических данных (напряжений с ФПУ) внутри диагностического прибора, не превышающих вклада в $\pm 1\%$ в суммарную погрешность диагностики, на данном этапе развития НМС можно считать несущественным.

5 ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭТАПОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данном разделе исследований методика многократных «однотипных» статистических испытаний была применена в эксперименте в клинике при работе с группами условно здоровых добровольных испытуемых, а также пациентов различных научно-клинических подразделений МОНИКИ. Все медико-биологические исследования проводились, также как и на первом физико-техническом этапе, на основе трех основных диагностических технологий в НМС – оптической тканевой оксиметрии (ОТО), лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД). Так же как и при физико-технических исследованиях, основная часть экспериментов проводилась методом повторных статистических испытаний (измерений) с одной и той же анатомо-топографической области каждого испытуемого с целью обнаружения разбросов в результатах измерений и последующего анализа этого разброса на предмет выявления методических или инструментальных причин (как случайных, так и систематических), его вызывающих. В разных клиниках МОНИКИ в целях исследований обследовано около 200 человек. Из них около 100 человек находились под постоянным наблюдением в ходе всего курса лечения, т.е. они обследовались периодически в течение всего времени наблюдения. Полных 28 серий экспериментов было проведено с пациентами по методике повторных статистических испытаний для оценки математического ожидания и разброса результатов измерений в 5 разных по профилю клиниках МОНИКИ: отделениях радиологии, челюстно-лицевой хирургии, профпатологии, эндоскопии и физиотерапии. Около 30 человек было приглашено дополнительно для решения этих задач в качестве добровольных, условно здоровых испытуемых. Поскольку все медико-биологические тесты намного более трудоемки и в отличие от физико-технических исследований предполагают участие человека в качестве испытуемого биологического объекта (БО), количество испытаний в некоторых сериях было максимально минимизировано (не более 5-10).

Влияние отсутствия стандартизованных методик и маршрутов обследования пациентов на достоверность и воспроизводимость результатов диагностики в НМС оценивалось проведением с одними и теми же испытуемыми одних и тех же исследований медицинским персоналом разной квалификации в области НМС. Часть измерений предлагалось провести медперсоналу, имеющему многолетний опыт работы с подобными приборами и методиками в МОНИКИ, в том числе опыт выполнения диссертационных научных исследований по тематике НМС, а часть – молодым врачам и аспирантам, которым давались минимально необходимые или расплывчатые указания. При этом оценивалась сравнительная воспроизводимость, информативность и достоверность интерпретации полученных результатов у первой и второй групп исследователей. Часть результатов была получена с аспирантами при выполнении ими сначала не регламентированных исследований, а

затем исследований по заранее четко прописанному и регламентируемому диагностическому алгоритму. Часть данных получена методом ретроспективного анализа старых данных измерений коллектива проекта, выполненных в разное время в период 2000-2010гг. по разным основаниям.

5.1. Результаты статистических испытаний в разных клиниках МОНИКИ

Методы лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД) считаются сегодня наиболее информативными и эффективными в современной онкологии. Поэтому большой объем наших экспериментально-клинических исследований был посвящен пациентам, страдающим различными онкологическими заболеваниями, в частности базалиомами кожи (наиболее доступная поверхностная онкологическая модель) и злокачественными новообразованиями орофарингеальной зоны (доступные для визуальных исследований органы полости рта – язык, верхнее нёбо, щека и пр.). Ранее, в 2008г., в качестве научного задела по этому разделу исследований нами сообщались результаты оценки выборочного эмпирического среднего (M_s), эмпирического СКО (σ) и разброса (коэффициента вариации) по (3.3) результатов измерений в серии из s многократно повторяемых измерений методом ЛФД в радиологической клинике [40]. Один из фрагментов полученных ранее данных представлен в Таблице 5.1.

Таблица 5.1

Статистические результаты ЛФД при однократных (мгновенных) измерениях.
Флюоресценция эндогенных порфиринов при возбуждении в линии 632 нм.

Объект исследования (БО)	Статистические параметры	Физические параметры (сигналы), усл. ед.		Вычисляемый K_f
		I_r/β	I_ϕ	
Здоровая ткань	M_s	1207	57,95	0,091
	σ	30,39	4,73	0,006
	$\delta\%$	2,52	8,16	6,85
Злокачественный процесс (рак)	M_s	768	341,5	0,621
	σ	35,88	40,13	0,047
	$\delta\%$	4,75	11,75	7,61

В этих исследованиях, а также еще ранее в [37], было показано, что относительная погрешность (разброс результатов измерений) в ЛФД на БО сегодня находится в пределах $\delta=\pm 30\%$. Похожая ситуация в рамках выполнения данного проекта была обнаружена нами и для методов оптической тканевой оксиметрии (ОТО) и лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). В качестве примера в Таблице 5.2 представлен аналогичный фрагмент анализа статистических данных единичных (мгновенных) измерений для оптического оксиметра «Спектротест». При остающемся сравнительно небольшом разбросе в регистрируемых физических сигналах с фотоприемников (V_i) в разных спектральных диапазонах длин волн, разброс конечных вычисляемых медицинских параметров – тканевой сатурации оксигемоглобина (S_tO_2) и относительного кровенаполнения (V_b)

микроциркуляторного русла биоткани - увеличивается до $\pm 15\%$ и более. В ряде экспериментов для разных приборов «Спектротест» был получен разброс в $\pm 35\%$.

Таблица 5.2

Статистические результаты ОТО при единичных статических (мгновенных) измерениях с БО.

Объект исследования	Статистические параметры	Регистрируемые физические сигналы, мВ			Вычисляемые медицинские параметры, отн. ед.	
		V _G	V _R	V _{IR}	S _t O ₂ /100%	V _b /100%
Здоровая ткань	M ₅	821,9	2052	1358	0,81	0,13
	σ	65,71	73,95	47,13	0,09	0,02
	δ%	7,99	3,59	3,47	11,1	15,3
Злокачественный процесс (рак)	M ₅	774,5	2678	1594	0,93	0,16
	σ	39,76	83,18	40,51	0,06	0,01
	δ%	5,13	3,11	2,52	6,45	6,25

Однако все эти измерения здесь и ранее проводились нами лишь для наружных локализаций злокачественного процесса или для опухолей органов полости рта, т.е. ранее все наши измерения проводились для достаточно удобных для доступа локализаций. Соответственно теперь, в первую очередь, большой интерес в проекте для нас представлял вопрос, как меняются разброс и погрешности результатов диагностики, если рассматриваются локализации в труднодоступном месте – желудок, прямая кишка, легкие, бронхи. Эти локализации доступны сегодня для обследований методами НМС с помощью эндоскопической техники (гастроскопов, колоноскопов и т.п.), но эта техника существенно усложняет процесс обследования, делает его некомфортным для пациента и, следовательно, может приводить к дополнительным погрешностям и ошибкам диагностики.

Для их оценки в 2009г. нами были проведены сравнительные внутриволокнистые исследования на выборке 10 пациентов опытными врачами эндоскопического отделения МОНИКИ при наблюдении флюоресценции в зеленом и красном диапазонах длин волн (возбуждение (I_л) 532 нм, регистрация и оценка сигнала флюоресценции (I_ф) в трех разных линиях спектра - 560 нм, 608 нм, 640 нм) одновременно для двух разных внутриволокнистых процедур – гастроскопии и колоноскопии. Регистрирующий прибор – комплекс «ЛЭСА». Оценка полученных результатов проводилась на основе статистических данных расчета модифицированного коэффициента флюоресцентной контрастности K_{fi}, а также дополнительно, коэффициента флюоресценции по формуле:

$$K_i = \frac{\beta \cdot I_{\phi i}}{I_n}, \quad (5.1)$$

где i=1,2,3 соответствует сигналу флюоресценции (I_{фи}) в трех разных линиях спектра - 560 нм, 608 нм, 640 нм соответственно. Фрагмент полученных результатов представлен в таблицах 5.3 и 5.4. Амплитуда лазерного пика оценена с учетом подавления излучения в обрезавшем фильтре, т.е. уменьшена на величину приборного коэффициента β.

Таблица 5.3

Статистические данные ЛФД для пациентов отделения эндоскопии при гастроскопии.

Пациент КВН, гастрит										
Параметр	Измеренный сигнал				Кoeffициент контраста			Кoeff. Флюоресценции		
	Ил	Иф1(560)	Иф2(608)	Иф3(640)	К _{f1} =	К _{f2} =	К _{f3} =	К ₁ =	К ₂ =	К ₃ =
Измер. № 1	650	200	600	400	0,471	0,960	0,762	0,308	0,923	0,615
Измер. № 2	800	400	500	450	0,667	0,769	0,720	0,500	0,625	0,563
Измер. № 3	650	200	600	400	0,471	0,960	0,762	0,308	0,923	0,615
Измер. № 4	600	200	620	400	0,500	1,016	0,800	0,333	1,033	0,667
Измер. № 5	700	300	600	450	0,600	0,923	0,783	0,429	0,857	0,643
Измер. № 6	600	200	700	350	0,500	1,077	0,737	0,333	1,167	0,583
Измер. № 7	650	250	650	400	0,556	1,000	0,762	0,385	1,000	0,615
Измер. № 8	700	300	700	400	0,600	1,000	0,727	0,429	1,000	0,571
Измер. № 9	600	200	600	300	0,500	1,000	0,667	0,333	1,000	0,500
Измер. № 10	600	250	650	300	0,588	1,040	0,667	0,417	1,083	0,500
М	655,00	250,00	622,00	385,00	0,545	0,975	0,739	0,377	0,961	0,587
σ	64,33	66,67	58,27	52,97	0,067	0,084	0,045	0,064	0,147	0,056
δ (%)	9,82	26,67	9,37	13,76	12,23	8,63	6,08	17,08	15,26	9,48
Пациент КАА, гастрит										
Параметр	Измеренный сигнал				Кoeffициент контраста			Кoeff. Флюоресценции		
	Ил	Иф1(560)	Иф2(608)	Иф3(640)	К _{f1} =	К _{f2} =	К _{f3} =	К ₁ =	К ₂ =	К ₃ =
Измер. № 1	500	150	300	150	0,462	0,750	0,462	0,300	0,600	0,300
Измер. № 2	400	150	250	200	0,545	0,769	0,667	0,375	0,625	0,500
Измер. № 3	500	200	500	300	0,571	1,000	0,750	0,400	1,000	0,600
Измер. № 4	400	150	400	300	0,545	1,000	0,857	0,375	1,000	0,750
Измер. № 5	400	200	500	300	0,667	1,111	0,857	0,500	1,250	0,750
Измер. № 6	300	250	450	300	0,909	1,200	1,000	0,833	1,500	1,000
Измер. № 7	400	200	500	250	0,667	1,111	0,769	0,500	1,250	0,625
Измер. № 8	500	200	450	300	0,571	0,947	0,750	0,400	0,900	0,600
Измер. № 9	400	200	400	250	0,667	1,000	0,769	0,500	1,000	0,625
Измер. № 10	400	200	400	250	0,667	1,000	0,769	0,500	1,000	0,625
М	420,00	190,00	415,00	260,00	0,627	0,989	0,765	0,468	1,013	0,638
σ	63,25	31,62	85,15	51,64	0,121	0,142	0,139	0,146	0,276	0,180
δ (%)	15,06	16,64	20,52	19,86	19,36	14,38	18,20	31,21	27,23	28,29
Пациент ШЛА, гастрит										
Параметр	Измеренный сигнал				Кoeffициент контраста			Кoeff. Флюоресценции		
	Ил	Иф1(560)	Иф2(608)	Иф3(640)	К _{f1} =	К _{f2} =	К _{f3} =	К ₁ =	К ₂ =	К ₃ =
Измер. № 1	500	400	650	350	0,889	1,130	0,824	0,800	1,300	0,700
Измер. № 2	700	250	600	300	0,526	0,923	0,600	0,357	0,857	0,429
Измер. № 3	700	400	700	400	0,727	1,000	0,727	0,571	1,000	0,571
Измер. № 4	700	300	600	400	0,600	0,923	0,727	0,429	0,857	0,571
Измер. № 5	700	200	600	300	0,444	0,923	0,600	0,286	0,857	0,429
Измер. № 6	600	200	600	300	0,500	1,000	0,667	0,333	1,000	0,500
Измер. № 7	500	200	500	250	0,571	1,000	0,667	0,400	1,000	0,500
Измер. № 8	700	350	650	400	0,667	0,963	0,727	0,500	0,929	0,571
Измер. № 9	600	300	600	350	0,667	1,000	0,737	0,500	1,000	0,583
Измер. № 10	650	359	500	300	0,712	0,870	0,632	0,552	0,769	0,462
М	635,00	295,90	600,00	335,00	0,630	0,973	0,691	0,473	0,957	0,532
σ	81,82	80,49	62,36	52,97	0,130	0,071	0,071	0,149	0,146	0,084
δ (%)	12,88	27,20	10,39	15,81	20,63	7,34	10,22	31,50	15,22	15,85

Таблица 5.4

Статистические данные ЛФД для пациентов отделения эндоскопии при колоноскопии.

Пациент ЖНД, воспаление										
Параметр	Измеренный сигнал				Кoeffициент контраста			Кoeffф. Флюоресценции		
	Ил	Иф1(560)	Иф2(608)	Иф3(640)	К _{к1} =	К _{к2} =	К _{к3} =	К _{ф1} =	К _{ф2} =	К _{ф3} =
Измер. № 1	600	200	500	300	0,500	0,909	0,667	0,333	0,833	0,500
Измер. № 2	520	200	580	380	0,556	1,055	0,844	0,385	1,115	0,731
Измер. № 3	580	200	500	300	0,513	0,926	0,682	0,345	0,862	0,517
Измер. № 4	600	240	640	400	0,571	1,032	0,800	0,400	1,067	0,667
Измер. № 5	400	180	440	300	0,621	1,048	0,857	0,450	1,100	0,750
Измер. № 6	540	220	650	420	0,579	1,092	0,875	0,407	1,204	0,778
Измер. № 7	500	200	500	240	0,571	1,000	0,649	0,400	1,000	0,480
Измер. № 8	300	180	500	250	0,750	1,250	0,909	0,600	1,667	0,833
Измер. № 9	580	200	580	300	0,513	1,000	0,682	0,345	1,000	0,517
Измер. № 10	600	200	500	300	0,500	0,909	0,667	0,333	0,833	0,500
М	522,00	202,00	539,00	319,00	0,567	1,022	0,763	0,400	1,068	0,627
σ	99,98	17,51	69,35	60,82	0,076	0,102	0,103	0,080	0,245	0,138
δ (%)	19,15	8,67	12,87	19,07	13,34	10,02	13,50	20,04	22,97	21,96
Пациент СГВ, язвенный колит										
Параметр	Измеренный сигнал				Кoeffициент контраста			Кoeffф. Флюоресценции		
	Ил	Иф1(560)	Иф2(608)	Иф3(640)	К _{к1} =	К _{к2} =	К _{к3} =	К _{ф1} =	К _{ф2} =	К _{ф3} =
Измер. № 1	780	200	440	220	0,408	0,721	0,440	0,256	0,564	0,282
Измер. № 2	800	220	500	220	0,431	0,769	0,431	0,275	0,625	0,275
Измер. № 3	800	220	600	300	0,431	0,857	0,545	0,275	0,750	0,375
Измер. № 4	780	180	350	200	0,375	0,619	0,408	0,231	0,449	0,256
Измер. № 5	790	200	400	300	0,404	0,672	0,550	0,253	0,506	0,380
Измер. № 6	600	200	420	220	0,500	0,824	0,537	0,333	0,700	0,367
Измер. № 7	650	200	400	250	0,471	0,762	0,556	0,308	0,615	0,385
Измер. № 8	780	220	600	400	0,440	0,870	0,678	0,282	0,769	0,513
Измер. № 9	700	200	320	250	0,444	0,627	0,526	0,286	0,457	0,357
Измер. № 10	750	220	400	300	0,454	0,696	0,571	0,293	0,533	0,400
М	743,00	206,00	443,00	266,00	0,436	0,742	0,524	0,279	0,597	0,359
σ	69,77	13,50	95,69	60,22	0,035	0,090	0,080	0,029	0,115	0,075
δ (%)	9,39	6,55	21,60	22,64	8,11	12,13	15,22	10,39	19,32	20,82
Пациент АТВ, норма										
Параметр	Измеренный сигнал				Кoeffициент контраста			Кoeffф. Флюоресценции		
	Ил	Иф1(560)	Иф2(608)	Иф3(640)	К _{к1} =	К _{к2} =	К _{к3} =	К _{ф1} =	К _{ф2} =	К _{ф3} =
Измер. № 1	400	380	800	500	0,974	1,333	1,111	0,950	2,000	1,250
Измер. № 2	380	220	600	400	0,733	1,224	1,026	0,579	1,579	1,053
Измер. № 3	500	200	600	500	0,571	1,091	1,000	0,400	1,200	1,000
Измер. № 4	520	200	600	400	0,556	1,071	0,870	0,385	1,154	0,769
Измер. № 5	580	200	600	400	0,513	1,017	0,816	0,345	1,034	0,690
Измер. № 6	400	300	400	250	0,857	1,000	0,769	0,750	1,000	0,625
Измер. № 7	400	300	420	300	0,857	1,024	0,857	0,750	1,050	0,750
Измер. № 8	400	200	500	300	0,667	1,111	0,857	0,500	1,250	0,750
Измер. № 9	400	200	400	400	0,667	1,000	1,000	0,500	1,000	1,000
Измер. № 10	500	250	450	300	0,667	0,947	0,750	0,500	0,900	0,600
М	448,00	245,00	537,00	375,00	0,706	1,082	0,906	0,566	1,217	0,849
σ	70,05	62,41	127,02	85,80	0,150	0,117	0,121	0,194	0,334	0,214
δ (%)	15,64	25,47	23,65	22,88	21,17	10,83	13,33	34,24	27,47	25,19

Все полученные результаты говорят о том, что в среднем эндоскопические процедуры увеличивают разброс данных на 5-10% по сравнению с наружными обследованиями, но этот разброс также в общем случае укладывается в полученный ранее диапазон $\delta=\pm 30\%$. Отсюда следует вывод, что техника эндоскопических процедур существенно не увеличивает погрешность измерений в ЛФД, т.е. обнаруживаемый максимальный разброс данных в 30% не является специфическим для эндоскопических процедур. Соизмеримый разброс данных часто проявляется и при наружных обследованиях, следовательно, его величина обуславливается в основном другими причинами.

В частности, одной из таких причин, как показали дальнейшие результаты исследований, является установка диагностического датчика при многократно повторяемых измерениях не точно в первоначальное положение, а с небольшим смещением. Микроциркуляторное русло большинства мягких тканей человека весьма неоднородно, и небольшое смещение датчика прибора НМС может приводить к попаданию в зону обследования разного количества и разной иерархии микрососудов с кровью, что сильно сказывается на результатах измерений. Таблица 5.5 демонстрирует подобные экспериментальные данные, полученные с прибором «Спектротест» в физиотерапевтическом и радиологическом отделениях МНИКИ.

Таблица 5.5.

Пример результатов статистических испытаний с оксиметром «Спектротест» в физиотерапевтическом и радиологическом отделениях МНИКИ

Параметр	Испытуемый 1		Испытуемый 2		Испытуемый 3	
	$V_b/100\%$	$S_tO_2/100\%$	$V_b/100\%$	$S_tO_2/100\%$	$V_b/100\%$	$S_tO_2/100\%$
M₅ Серия 1	0,119	0,876	0,209	0,730	0,280	0,840
M₅ Серия 2	0,085	0,973	0,166	0,852	0,275	0,826
M₅ Серия 3	0,177	0,776	0,166	0,855	0,274	0,827
M₃	0,127	0,875	0,180	0,812	0,276	0,831
σ	0,046	0,099	0,025	0,071	0,003	0,008
δ=(σ/M)·100%	36,3	11,3	13,8	8,7	1,1	0,9

В этом фрагменте исследований с каждым испытуемым проводилось по 3 серии многократно повторяемых измерений (по 5 измерений в серии) для минимизации и усреднения влияния других погрешностей измерений, а разброс оценивался от серии к серии. При этом с испытуемым 1 работал молодой аспирант, которому не сообщались цели исследований и необходимая методика - максимально точно установить датчик прибора в одно и то же место при каждом новом измерении. С испытуемым 2 работал другой, более опытный и аккуратный аспирант, и после того, как его внимание специально было обращено на необходимость тщательного контроля место установки датчика прибора на теле пациента. Третий испытуемый находился под контролем руководителя проекта. Зарегистрировано очевидное уменьшение погрешности диагностики от испытуемого к

испытуемому, т.е. тщательный контроль места фиксации датчика прибора на теле пациента - важная составляющая мероприятий по уменьшению погрешностей в НМС.

Как было показано в п.4, неоднозначность фиксации положения датчика на обследуемом объекте является источником ощутимых случайных погрешностей и разбросов результатов измерений уже при исследованиях на не биологических РИМ. Особенно сказываются неоднозначность и случайное угловое позиционирование волоконного зонда без экранирующего подпятника (рис.4.7). Эти же погрешности в еще более значимом виде проявились и при исследованиях в клинике. В частности погрешности от неоднородности объекта измерений при неточном позиционировании датчика на теле пациента от измерения к измерению четко, видимо, проявились в результатах приведенной выше таблицы 5.5. Разброс результатов измерений от серии к серии здесь вырос для пациента №1 до 36%. Но в условиях клиники и живого характера объекта диагностики к величине этой случайной (а иногда и систематической) методической погрешности от неоднородности БО прибавляется, как выяснилось, и еще одна важная составляющая погрешности. В реальной медицинской практике достаточно весомой оказалась по результатам проведенных нами дополнительных исследований составляющая инструментальной погрешности, *обусловленная взаимодействием средства измерения и объекта измерения (БО)*, в результате чего происходит изменение свойств живого БО (чего нет на РИМ). Эту составляющую инструментальной погрешности мы для краткости назвали *интерактивной составляющей погрешности*.

Типичным примером и наиболее ярким на наш взгляд проявлением интерактивной составляющей погрешности является ситуация неконтролируемого давления датчика прибора на тестируемую область биоткани, что приводит к частичному обескровливанию микроциркуляторного русла и существенному изменению всех оптико-физических свойств тканей БО в зоне обследования, начиная с плотности и заканчивая погонными (транспортными) оптическими коэффициентами поглощения, рассеяния и флюоресценции. Изучение этой составляющей погрешности проводилось нами параллельно на многофункциональном лазерном диагностическом комплексе «ЛАКК-М», лазерном доплеровском анализаторе капиллярного кровотока «ЛАКК-01» и двух приборах «Спектротест». Разные давления датчика на биоткань моделировались разными пробными грузами, в качестве которых использовались калиброванные свинцовые пластинки, одеваемые на подпятник оптического зонда в случае работы на диагностическом комплексе «ЛАКК-М» и приборе «ЛАКК-01» (рис. 5.1), а также стандартные гирьки от весов в случае работы с оксиметром «Спектротест», располагаемые свободно на тыльной поверхности оптической головки прибора.

Во всех экспериментах было отмечено большое влияние давления датчика на все регистрируемые методами НМС физические и медико-биологические показатели у испытуемого. Характер этого влияния был зафиксирован примерно одинаковым для разных приборов и разных диагностических методов НМС. В первую очередь (по нашим оценкам на 90-95%), это влияние обуслав-

ливалось выдавливанием части крови из микрососудистого русла биоткани (особенно венозной) и уменьшением общего поглощения оптического излучения в диагностическом объеме БО.

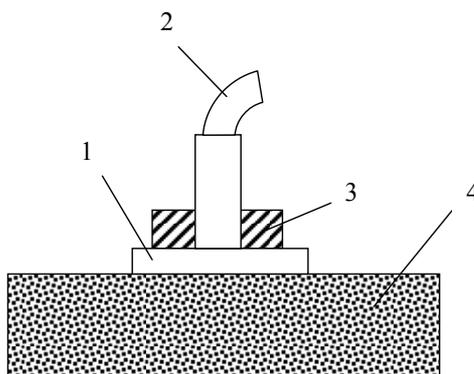


Рис. 5.1. Позиционирование волоконного датчика с грузом на ткани.

1 – подпятник волоконного зонда; 2 – оптический волоконный зонд; 3 – грузик; 4 – биоткань.

В качестве примера на рис. 5.2 и 5.3 приведены графики флюоресценции кожи подушечки пальца руки в двух случаях: без принудительного внешнего давления (зонд закреплен в штативе) и с принудительным, достаточно сильным давлением в 10 Г/мм^2 ($\approx 10^4 \text{ Па}$). В зеленом диапазоне спектра возбуждение флюоресценции осуществлялось лазером 532нм (рис.5.2), в ближнем УФ и синем диапазоне спектра (рис. 5.3) – источником 375нм. Отчетливо видно увеличение сигнала флюоресценции в 2-3 раза при приложении внешнего давления. Синхронно с амплитудой сигнала флюоресценции возрастает и амплитуда обратно рассеянного излучения (I_r) в линии возбуждения флюоресценции. Однако ожидаемое искажение формы контура сигнала флюоресценции было в этих экспериментах практически не заметно на глаз.

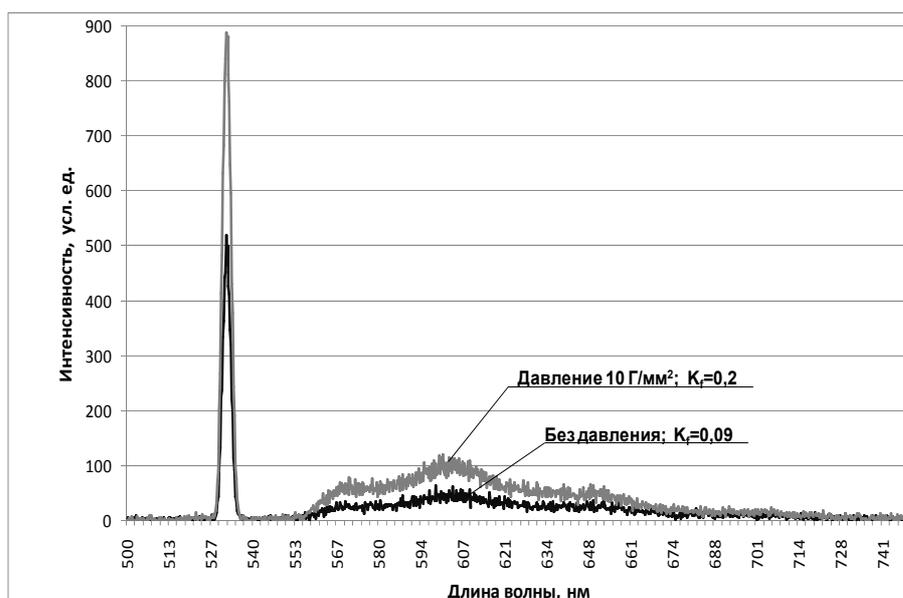


Рис. 5.2. Влияние давления датчика на сигнал флюоресценции в диапазоне 530-700 нм.

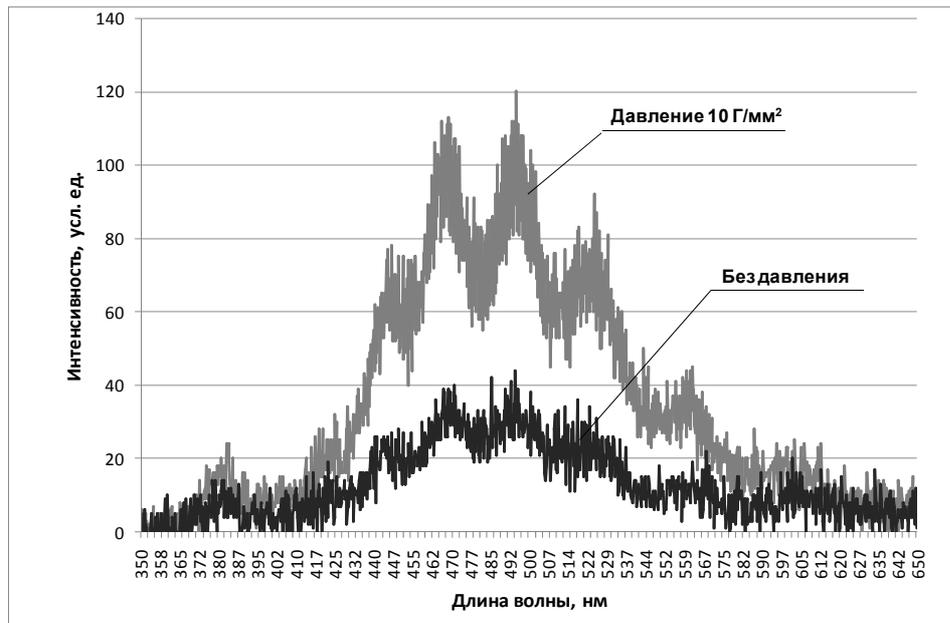


Рис. 5.3. Влияние давления датчика на сигнал флуоресценции в диапазоне 400-630 нм.

Тем не менее, нормирование линий флуоресценции на амплитуду $I_{\text{л}}$ при вычислении коэффициента флуоресцентной контрастности K_f , как выяснилось, все равно приводит к существенно различающимся, почти в 2 раза (рис. 5.2), числовым значениям K_f . Это означает, что искажение спектра на рис. 5.2, все-таки произошло, но главным образом в линии обратного рассеяния излучения. Она возросла чуть меньше линий флуоресценции.

Полученные результаты дополнительно интересны еще и тем, что часто в литературе дискутируется вопрос глубины проникновения и, соответственно, глубины флуоресцентной диагностики (глубины ЭДО), особенно для синего и ближнего УФ диапазонов спектра. Увеличение амплитуды сигнала флуоресценции на рис. 5.3 и одновременное практически точное повторение контура формы сигнала говорит о том, что он первоначально был получен из дермальных слоев кожи, богатых микрососудами. Измерения в этих примерах проводились на ладонной поверхности дистальных фаланг пальцев рук, где толщина рогового слоя и эпидермиса достигают в сумме 1 мм и более. Поэтому, можно уверенно утверждать, что даже для синего и ближнего УФ диапазонов спектра измерение сигнала флуоресценции производится с глубин не менее 1-2 мм, а степень кровенаполнения дермы сильно влияет на оценку амплитуд спектров флуоресценции.

Поскольку аналогичные результаты влияния внешнего давления на результаты ЛФД известны из литературы (например, [41]), нам показалось интересным сравнить полученные наши результаты и данные литературы. Это интересно не только в плане сравнения на предмет достоверности новых результатов, но и на предмет их воспроизводимости в разных учреждениях и разными коллективами исследователей, т.к. межлабораторная сличимость результатов измерений – также является одной из важнейших метрологических проблем.

Для выполнения такого сравнения нами были построены зависимости регистрируемой на комплексе «ЛАКК-М» амплитуды сигнала флюоресценции как функции приложенного внешнего давления для линии флюоресценции 460 нм. Рис. 5.4 воспроизводит наши результаты. Аналогичные данные приведены в цитируемой литературе Синичкиным Ю.П. Наблюдается практически полное совпадение результата за исключением абсолютной величины регистрируемого сигнала. В наших опытах амплитуда сигнала флюоресценции регистрировалась выше в несколько раз в сравнении с данными литературы. Очевидно, это объясняется разной чувствительностью используемой измерительной аппаратуры. Используемая нами современная аппаратура (комплекс «ЛАКК-М») оказалась на порядок более чувствительной.

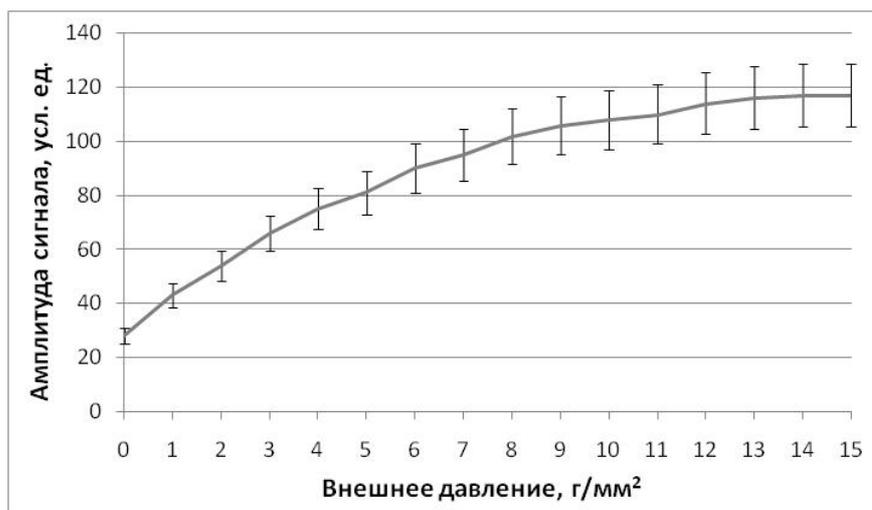


Рис. 5.4. Зависимость регистрируемой амплитуды флюоресценции кожи пальца руки в линии 460 нм от величины приложенного внешнего давления на датчик прибора. Возбуждение в линии 375 нм.

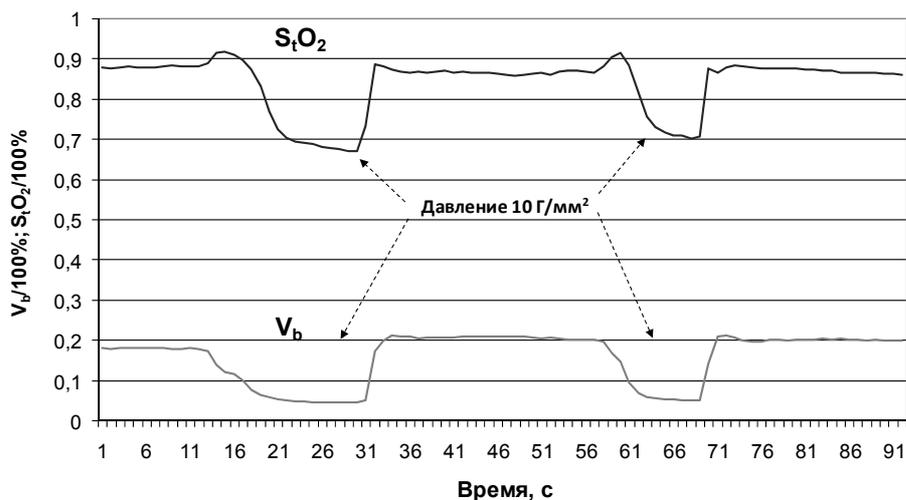


Рис. 5.5. Данные оптической тканевой оксиметрии при экспериментах с давлением.

Результаты, подтверждающие очевидный тезис о выдавливании крови из области обследования, с целью оценить примерный объем выдавливаемой крови были дополнительно получены на-

ми с использованием диагностического прибора ОТО «Спектротест». Их пример представлен на рис. 5.5. Два повторно проведенных измерения, показанных на графике, и практически полная идентичность их результатов говорят об объективности наблюдаемого процесса, его воспроизводимости и о возможной практически полной потере крови в обследуемом объеме БО при приложении давления уже в 10 Г/мм^2 . А плавное падение показателей в течение 5-10 секунд говорит еще и об инерционном и динамическом характере этого процесса.

Подобные результаты параллельно были получены и для методики лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Рис. 5.6 демонстрирует типовое влияние разной величины приложенного внешнего давления на регистрируемый показатель индекса микроциркуляции I_m в одном эксперименте с одним испытуемым при использовании прибора «ЛАКК-01» ($\lambda=632\text{нм}$).

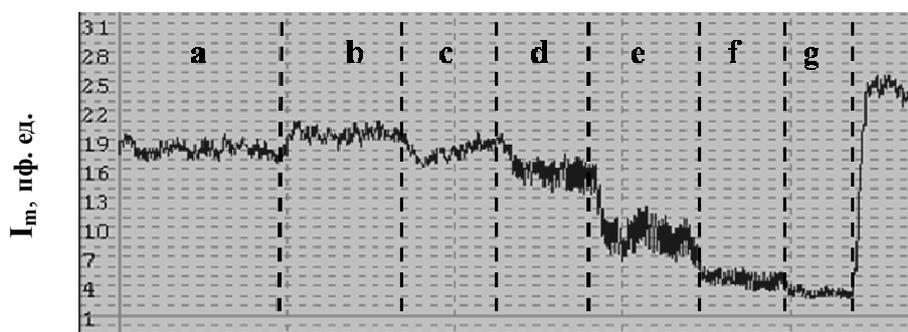


Рис. 5.6. Данные ЛДФ при экспериментах с давлением: **a** – исходный уровень без давления, **b** – 0.59 Г/мм^2 ; **c** – 1.15 Г/мм^2 ; **d** – 2.31 Г/мм^2 ; **e** – 8.56 Г/мм^2 ; **f** – 10.21 Г/мм^2 ; **g** – 14.92 Г/мм^2 .

Интересно отметить, что при начальном небольшом внешнем давлении показатель I_m первоначально увеличивается процентов на 10 (интервал *b*). Это же явление при внимательном рассмотрении видно и на графике рис. 5.5 для параметра тканевой сатурации S_tO_2 . Связано оно может быть с тем, что в первую очередь из сдавливаемого объема ткани выдавливается венозная компонента крови, которая имеет больший коэффициент поглощения для диапазона 630-650 нм. Соответственно, увеличивается средний параметр S_tO_2 и увеличивается рассеянная компонента излучения, рассеиваемая подвижной кровью, что прибор «ЛАКК-01» воспринимает как «увеличение» количества эритроцитов в зоне обследования и пропорционально увеличивает свой расчетный показатель I_m . Кроме того, в зоне давлений *d* и *e* наблюдается отчетливое увеличение ритмической компоненты кровотока. Таким образом, получены убедительные данные, что изменение кровенаполнения вследствие приложенного внешнего давления может самым сильным образом сказываться на всех показателях микроциркуляции крови в зоне обследования, регистрируемых методами НМС. Т.е. **регламентация и стандартизация давления датчика на ткани пациента очень важна для достижения единства измерений в НМС.**

Отсутствие четких указаний по установке датчика прибора, силе нажима на датчик, по необходимости использования функциональных нагрузочных тестов и регламентации времени прове-

дения процедур приводило в большинстве случаев в наших исследованиях к тому, что неопытными врачами регистрировались достаточно случайные диагностические данные, которые далее были трудно объяснимы и оказывались на поверку мало достоверны в силу присутствия в них большой субъективной методической погрешности (см. таблицу 5.5 и рис. 5.6). Например, при установке без штатива датчика прибора «ЛАКК-01» на слизистую дна полости рта или языка прилагалось такое давление, которое полностью выдавливало кровь из ЭДО, а регистрируемый показатель микроциркуляции I_m падал практически до нуля. Точная же регламентация каждого шага исследования, особенно при функциональных нагрузочных тестах на систему микроциркуляции крови, регламентация давления и метода фиксации датчика на области обследования, приводила к получению легко воспроизводимых и достаточно информативных результатов с уже установленным ранее разбросом не более $\pm 25-30\%$, который можно, видимо, считать сегодня достаточно стандартным в НМС. **Т.е. без стандартных, унифицированных методик и маршрутов обследования пациента, включая регламентацию давления и способа фиксации датчика на области обследования пациента, методы НМС могут полностью терять свою информативность, точность и достоверность.**

Влияние внешнего фона (освещения) на результаты измерений также оценивалось нами в нескольких фрагментах исследований, поскольку условия освещения, особенно для операционного поля при интраоперационной диагностике, могут варьироваться в клинике в очень широких пределах. В общем случае было установлено, что сильно избыточный фон резко влияет на результаты измерений, однако его проявление в виде «зашкала» прибора (методы ОТО, ЛДФ) или появления ложного спектра при ЛФД сразу становится видно оператору (врачу) уже при калибровке и настройке прибора. Соответственно, можно достаточно легко во многих случаях избежать этой ситуации, например, кратковременным выключением внешнего осветителя на время записи результатов диагностики. Небольшой же внешний фон никак не влияет на результаты диагностики в пределах погрешности в 1%, т.к. большинство приборов, с которыми мы работали, уже выполнены с возможностью компенсации влияния небольшого внешнего освещения (оксиметры «Спектротест», комплекс «ЛАКК-М» и др.).

В этом разделе исследований было получено и еще два важных дополнения к уже упомянутым выше результатам, которые необходимо отметить. Первое дополнение касается выявленной существенно более высокой информативности и воспроизводимости результатов диагностики, полученных на основе регистрации во времени показателей НМС в сравнении с результатами единичных (мгновенных) измерений. Это связано с вариабельностью системы микроциркуляции крови, т.е. опять же с источником возникновения погрешностей, связанным с живым характером объекта диагностики. При однократных мгновенных измерениях, например в ОТО, скажем параметра S_rO_2 , выполняемых раз за разом или время от времени, врач часто наблюдает типовую картину

разброса показателей, изображенную на рис. 5.7 вверху. Этот результат неопытным врачом может быть интерпретирован как случайный разброс в полученных диагностических данных. Но если измерения выполняются во времени непрерывно, как это показано на рис. 5.7 внизу, тогда параметр S_tO_2 , представленный как функция времени, будет интерпретирован опытным врачом как проявление ритмов микрогемодинамики в системе микроциркуляции крови, т.е. как абсолютно корректный и объяснимый результат. Таким образом, живой и изменчивый характер объекта диагностики, особенно на уровне системы микроциркуляции крови, не принимаемый во внимание в методическом плане, может быть легко и ложно интерпретирован как случайная погрешность метода. Соответственно, стандартизация и унификация методик НМС должна предполагать **обязательную непрерывную регистрацию параметров микрогемодинамики** методами ЛДФ, ОТО и т.п. за фиксированный промежуток времени (30-150 секунд и более) с последующим их усреднением или интерпретацией в терминах среднего значения и амплитуд ритмов кровотока.

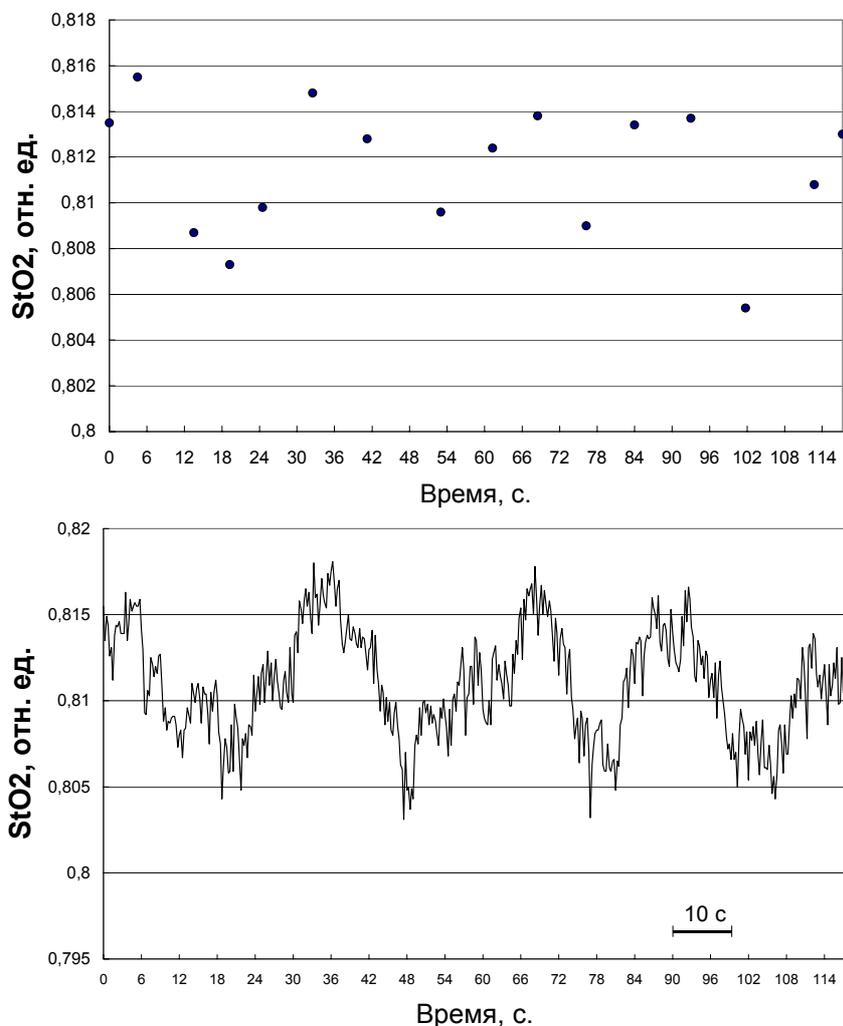


Рис. 5.7. Регистрируемый «случайный» разброс в результатах однократных (вверху) и непрерывных (внизу) во времени результатов измерений в ОТО.

Очевидно, что на интерпретацию результатов измерений таких динамически изменчивых параметров микрогемодинамики сильное влияние может оказывать существующий нормальный физиологический разброс в этих параметрах, как от пациента к пациенту, так и для одного и того же пациента день ото дня и даже в течение одного часа или десятков минут. В литературе встречаются упоминания по большой вариабельности ЛДФ-сигнала. В [43] указывается на изменение ЛДФ-граммы у одного и того же пациента в разное время суток и в различные дни и недели, что связано с временной изменчивостью перфузии ткани, причем эти изменения могут достигать 2-4 раз. В то же время существует упоминание об индивидуальном разбросе относительных величин ЛДФ-сигнала, который составлял по данным авторов всего от 4 до 19 % в зависимости от локализации датчика анализатора [3]. Однако более развернутых и точных количественных данных по физиологическому разбросу параметров микроциркуляции, особенно параметров ОТО, в литературе нам найти не удалось. Поэтому, поскольку у нас было все необходимое оборудование, а также результаты обследований большого количества испытуемых за период 2000-2010 гг., включая условно здоровых добровольцев, мы решили на заключительных этапах нашего проекта РФФИ частично попытаться восполнить указанный пробел и ответить более определенно на вопрос об индивидуальном физиологическом разбросе показателей ЛДФ и ОТО в норме.

В этом фрагменте работ в качестве основных приборов для исследования системы микроциркуляции крови использовались лазерные анализаторы ЛАКК-01, ЛАКК-02 и ЛАКК-ОП [44], а также неинвазивный тканевой оксиметр «Спектротест». Новый анализатор ЛАКК-ОП, предназначенный для врачей общей практики, был впервые испытан в лаборатории медико-физических исследований МОНИКИ в начале 2010г. Им определяются одновременно в базовом режиме следующие основные параметры микрогемодинамики: перфузия (I_m) тканей кровью, уровень тканевой сатурации оксигемоглобина S_tO_2 , уровень объёмного кровенаполнения ткани V_b , среднее арифметическое значение каждого из измеряемых параметров за время обследования (M) и их среднеквадратичное отклонение от среднего (СКО) – σ . В режиме проведения дыхательной и окклюзионной пробы определяются индекс дыхательной пробы (ИДП) по формуле $ИДП=100\%(M-I_{mmin})/M$, где M – среднее значение перфузии до вдоха, I_{mmin} – минимальное значение перфузии в момент задержки дыхания; и резерв капиллярного кровотока $РКК=100\%(I_{mmax}/M)$, где I_{mmax} – максимальное значение перфузии в фазе реактивной постокклюзионной гиперемии.

В нашем исследовании принимали участие два человека без отягощённого сердечно-сосудистого анамнеза – мужчины возраста 28-48 лет. Первая часть исследования носила ретроспективный характер и касалась сбора и анализа диагностических данных для одного из участников проекта, полученных на анализаторах серии ЛАКК-01-02 и оксиметрах «Спектротест» в течение последних 6 лет. Измерения проводились на коже подушечки указательного пальца левой руки. При этом не существовало строгой последовательности и периодичности этих измерений, про-

сто время от времени с автора записывались данные в покое или при выполнении разных нагрузочных функциональных тестов в тех или иных исследовательских и/или демонстрационных целях. Эта часть исследований позволила проанализировать долговременную вариабельность параметров микрогемодинамики и транспорта кислорода в системе микроциркуляции у одного испытуемого на отрезке времени в 6 лет при случайной выборке момента времени измерения.

Вторая часть исследований была направлена на изучение кратковременного физиологического разброса показателей у одного испытуемого в течение 10 дней, ежедневно в одно и то же время (10 часов утра), чтобы исключить циркадные ритмы кровообращения. Эти исследования проводились на приборе ЛАКК-ОП. Датчик устанавливался на второй палец левой руки, и все показатели записывались с ладонной поверхности дистальной фаланги пальца. Записывались данные микроциркуляции в состоянии покоя (режим «фоновая запись» продолжительностью 6 минут), в режиме «дыхательная проба» (запись показателей при глубоком вдохе с последующей кратковременной задержкой дыхания в течение 15 секунд, общее время теста 1 минута), а также в режиме «окклюзионная проба» с пережатием плечевой артерии (длительность окклюзии 3 минуты, продолжительность всего теста – 6 минут). Полученные результаты исследований наглядно представлены в таблицах 5.6, 5.7 и на рис. 5.8.

Таблица 5.6

Статистические результаты ЛДФ и ОТО физиологического разброса параметров микрогемодинамики на анализаторе ЛАКК-ОП в течение 10 дней для одного испытуемого

Локализация	Статистические параметры	Базовые параметры			Параметры функциональных проб, %	
		I_m , пф. ед.	S_tO_2 , %	V_b , %	ИДП	РКК
Второй палец левой руки	M_{10}	18,42	83,15	10,68	17,33	138,35
	σ	7,04	6,44	3,22	33,22	23,43
	$\delta=100(\sigma/M)$, %	38,21	7,75	30,15	191,73	16,94

Таблица 5.7

Физиологический разброс индивидуальных показателей по методам ЛДФ и ОТО за время 6 лет

Локализация	Статистические параметры	Базовые параметры			Параметры функциональных проб, %
		I_m , пф. ед.	S_tO_2 , %	V_b , %	РКК
Второй палец на правой руке	M	17,67	88,75	10,09	136,73
	σ	4,71	8,31	3,87	17,77
	$\delta=100(\sigma/M)$, %	26,69	9,36	38,35	12,99

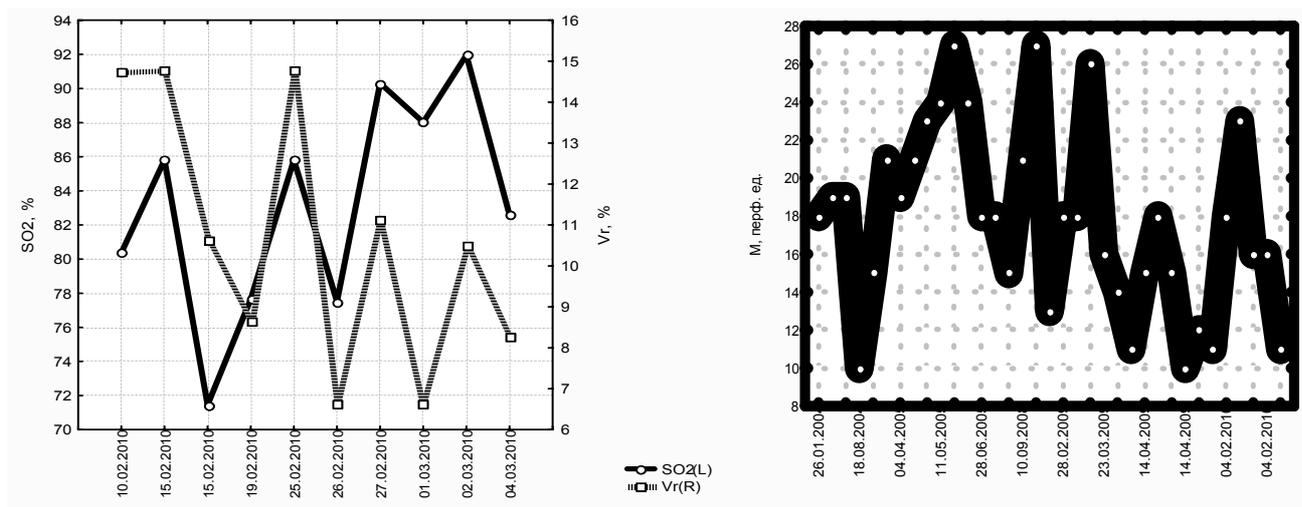


Рис. 5.8. Наглядный индивидуальный разброс данных S_tO_2 и V_b при многократно повторяющихся измерениях на анализаторе «ЛАКК-ОП» в течение 10 дней (слева) и индивидуальный разброс среднего значения (M) показателя перфузии I_m по методу ЛДФ у испытуемого за время наблюдения 6 лет (справа).

Из представленных результатов можно видеть, что в наименьшей степени индивидуальной физиологической изменчивости подвержен показатель тканевой сатурации оксигемоглобина смешанной крови S_tO_2 . Его разброс в среднем не превышает $\pm 10\%$. В большей степени вариабельность зафиксирована для ИДП ($\delta = 191,7\%$). Следует отметить, что такие показатели как индекс микроциркуляции крови (I_m), тканевая сатурация оксигемоглобина (S_tO_2) и объемное кровенаполнение биоткани (V_b) являются медико-биологическими параметрами, которые сразу вычисляются современными приборами в реальном времени, а индекс ИДП и резерв капиллярного кровотока (РКК) – это дополнительно вычисляемые параметры по результатам нагрузочных функциональных проб. Они вычисляются уже после проведения проб, поэтому, в связи с тем, что во время проведения проб могут возникать ошибки методического характера (не глубокий вдох, сдувание манжеты тонометра во время проведения окклюзионной пробы, медленное нагнетание воздуха в манжету и т.п.), которые носят случайный характер, в этих результатах может содержаться большая дополнительная погрешность измерений. Это, видимо, часто происходит при дыхательной пробе, т.к. понятие «глубокого вдоха» каждый испытуемый понимает и выполняет по-своему. Однако если методически какая-либо проба выполняется стандартизованным образом с инструментальным обеспечением, например, окклюзионная проба, то индивидуальный физиологический разброс результатов измерений с использованием этой пробы оказывается в общем случае меньше разбросов отдельных базовых показателей I_m и V_b . Это было показано в проекте на примере окклюзионной пробы и параметра РКК, который имел индивидуальный физиологический разброс в норме по уровню СКО не более $\pm 15...17\%$. Т.е. в НМС метрологически более надежными и достоверными оказываются результаты функциональных проб с инструментальным обеспечением контроля параметров пробы.

Относительный же физиологический разброс параметров I_m и V_b по результатам базовых (без проб) измерений в ЛДФ и ОТО находится в диапазоне не менее $\pm 30...35\%$ по уровню СКО от среднего измеренного значения каждого параметра. Если же принимать, как это обычно принято в измерениях в медицине, доверительную вероятность безошибочного результата в 95%, т.е. оценивать результат по уровню 2σ (удвоенного СКО), теоретический физиологический разброс показателей в норме возрастает до $\pm 60\%$, что может поставить под сомнение ряд результатов других авторов по дифференциальной диагностике норма/патология по критериям, различающимся между собой на меньшую величину. Выходом сегодня из такой ситуации является разработка таких диагностических критериев, которые отличались бы в ситуациях нормы и патологии на соизмеримую с указанной величину в $\pm 60\%$, а также создание унифицированных маршрутов и схем диагностических обследований, которые включали бы в себя обязательное сравнительное измерение величин в симметричных точках тела пациента и измерения изменений показателей в ответ на предъявление стимулов различной природы (физических, химических). Скажем, диагностические критерии по результатам функциональных нагрузочных проб на систему микроциркуляции крови, выполнение которых может быть сегодня методически строго нормировано и регламентировано, в частности по результатам окклюзионного теста, оказываются сегодня более метрологически надежными и достоверными в сравнении с данными исследований параметров в фоновых (базовых) тестах без нагрузок.

И второе важное дополнение относится к возможным ошибкам и промахам диагностики вследствие неоднозначности (многозначности) выбора места для обследования и локализации датчика в области патологии на теле пациента. Наиболее существенно в этом плане отсутствие стандартизованных маршрутов обследования сказывается для ЛФД. Распределение эндогенных флюорохромов в ткани, особенно в области, скажем, злокачественного новообразования, очень неоднородно. Фиксация датчика только в одном конкретном месте опухоли (в центре, например), вследствие малости диагностического объема может приводить даже к полному отсутствию в спектрах флюоресценции того или иного искомого вещества. Небольшое же смещение датчика в сторону от первоначального положения, на $0.5...1\text{мм}$ и менее, может привести к обнаружению этого вещества. Соответственно, результаты исследований методом ЛФД, в которых методически проводилось измерение показателей в нескольких точках по поверхности опухоли (базалиомы кожи, как пример) с последующим усреднением результата, оказывались в наших исследованиях в несколько раз более информативными и воспроизводимыми, нежели результаты единичных измерений в одной точке на поверхности процесса. Т.е. по аналогии с исследованием системы микроциркуляции крови, где рекомендуемыми являются непрерывные измерения за определенный интервал времени с последующим усреднением результата для определения среднего и отдельным анализом ритмов отличия от среднего, в ЛФД рекомендуемыми должны быть, по нашему мнению,

многократные измерения в нескольких точках по поверхности с последующим усреднением результата по этим измерениям, либо полностью результаты с разрешением распределения вещества по поверхности процесса (результаты типа «оцифрованное изображение плотности распределения вещества по поверхности»).

5.2 Оценка устойчивости диагностических критериев к погрешностям диагностики в НМС

Хотя большинство приборов в НМС классифицируются сегодня как приборы *индикаторного типа* [35], основная масса диагностических заключений (норма/патология и т.п.) делается в НМС на основе индицируемых приборами числовых показателей, либо разных других диагностических критериев (ДК), дополнительно вычисляемых на основе этих числовых величин. Поэтому, оценка устойчивости существующих ДК к выявленным источникам погрешностей в НМС – важная задача метрологического обеспечения НМС. В данном проекте оценку устойчивости существующих ДК к выявленным источникам погрешностей в НМС проводили на основе тех же экспериментальных данных, что были описаны выше в разделе 5.1 отчета. Дополнительно рассматривалось проведение исследований с использованием функциональных нагрузочных тестов на систему микроциркуляции крови, т.к. именно в этом разделе НМС, связанном с изучением системы микроциркуляции, сосредоточено сегодня большинство важных в практическом плане ДК.

Для метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) одним из важнейших диагностических критериев является критерий *резерва капиллярного кровотока* (РКК), на основании которого врач делает заключение о типе микроциркуляции крови у пациента. РКК определяется как процентное отношение максимума перфузии тканей кровью во время появления реактивной постокклюзионной гиперемии к исходному уровню перфузии до окклюзии при выполнении стандартной функциональной пробы с артериальной окклюзией. В рамках данного проекта, в дополнение к описанным выше результатам, мы изучили воспроизводимость и физиологический разброс результатов измерений РКК при выполнении теста с окклюзией на приборе «ЛАКК-02». Под наблюдением находилось 15 человек, как условно здоровых добровольцев, так и пациентов различных клиник МОНИКИ. 6 из 15 испытуемых исследованы на предмет сравнения РКК, измеренного одновременно на разных пальцах левой и правой руки. 9 испытуемых обследовалось многократно до 5 раз с интервалом в несколько дней для оценки разброса результатов измерений на интервале наблюдения вследствие возможных изменений в системе микроциркуляции крови испытуемого от протекания каких-либо стандартных физиологических процессов. В результате была выявлена удовлетворительная воспроизводимость РКК от измерения к измерению со случайным разбросом δ на уровне не более $\pm 15\%$. Основную погрешность по нашим данным в определении РКК вносит скорость и полнота нагнетания давления в манжету для достижения артериальной окклюзии. Сла-

бая устойчивость РКК наблюдается также к интерактивной составляющей погрешности, обусловленной выдавливанием крови из-под датчика в области обследования при закреплении датчика с первоначальным ненулевым внешним давлением. К факторам же внешнего освещения, неточности позиционирования датчика, выбору той или иной руки для обследования (методические различия) критерий РКК оказался достаточно устойчивым.

Наиболее часто используемым диагностическим критерием в лазерной флюоресцентной диагностике (ЛФД), судя по многочисленным публикациям, является сегодня *коэффициент флюоресценции* K , определяемый по соотношению (5.1). В МОНИКИ группа проекта в своих исследованиях чаще использует *модифицированный коэффициент флюоресцентной контрастности* K_f , определяемый по формуле (3.2). Если отвлечься от проблемы интерпретации спектров флюоресценции в терминах накопленных в тканях веществ, основными источниками погрешности и неопределенности результатов измерений в ЛФД являются: интерактивная погрешность, неоднозначность позиционирования датчика, субъективная погрешность оператора и т.д. Тогда закономерным является вопрос, насколько устойчивыми являются критерии K и K_f к этим факторам и явлениям? И какой из критериев к ним более устойчив? Хотя этот вопрос частично рассматривался нами ранее [37], было решено еще раз проверить эти результаты на воспроизводимость и дополнить их внутриволокнистыми исследованиями с применением эндоскопической техники.

Полученные результаты исследований наглядно были отражены в таблицах 5.3 и 5.4 данного отчета. При сравнении случайной относительной погрешности δ (разброса) результатов измерений отчетливо проявилось то, что критерий K_f имеет меньший разброс во всех проведенных сериях экспериментов. Соответственно, можно констатировать, что данный диагностический критерий (K_f), как при наружных (по ранее проведенным исследованиям), так и при внутриволокнистых обследованиях (по данным табл. 5.3 и 5.4), более устойчив к помеховым факторам и явлениям, а значит и более метрологически надежен.

Тем не менее, обнаруживаемый иногда разброс результатов измерений K_f в 30-40% может вызывать сомнения в возможности их использования в практическом здравоохранении и заставляет задуматься, является ли такая погрешность метода ЛФД критичной для достоверного диагностического заключения на основе ДК K_f или она не сильно влияет на интегральное медицинское заключение по результатам диагностики? Для изучения этого вопроса в качестве рабочей гипотезы в проекте использовались данные по корреляции флюоресценции эндогенных порфиринов *in vivo* (как наиболее сегодня метрологически надежно идентифицируемых) в тканях БО с состоянием хронической тканевой гипоксии [45]. Т.е. исследовался вопрос: можно ли по данным ДК K_f делать сегодня достоверные заключения о степени тяжести хронической гипоксии в тканях?

Данное исследование было выполнено в ретроспективном плане. Были повторно проанализированы все основные результаты исследований 2000-2008гг. в отделениях профпатологии, ра-

диологии и эндоскопии МОНИКИ по регистрации спектров флуоресценции эндогенных порфиринов с учетом возможного разброса результатов измерений в 30-40% для K_f . Было установлено, что возможна следующая классификация наблюдаемых нами значений K_f у больных разных категорий в терминах стадии (степени тяжести) хронической тканевой гипоксии:

- $K_f < 0.1$ – отсутствие видимой хронической гипоксии;
- $K_f = 0.1-0.2$ – начальная (легкая стадия) гипоксии;
- $K_f = 0.2-0.4$ – хроническая гипоксия средней тяжести;
- $K_f > 0.4$ – тяжелая стадия хронической гипоксии тканей.

В предложенной классификации числовые значения исследуемого ДК K_f меняются от стадии к стадии в 2 раза или более, поэтому, очевидно, погрешность в определении K_f в 30-40% не будет иметь существенного значения для конечного медицинского заключения внутри границ диапазонов. Существенное влияние большой погрешности измерений может здесь проявляться лишь вблизи границ диапазонов, однако известно, что любое разбиение на стадии, группы или границы в медицине само по себе достаточно условно, и является отдельной проблемой, без привязки к каким-либо конкретным методам диагностики, в частности к НМС. Например, известно, что при большом существующем разбросе в индивидуальных показателях, скажем артериального давления, в пограничных областях значений этого показателя (135-140 мм рт. ст.) у индивидуума трудно по единичному измерению сделать заключение о норме или наблюдаемой гипертензии. Однако многократные повторные или групповые средние показатели при этом с высокой достоверностью (до 99%) могут иметь статистически значимые различия. Т.е. методы НМС при наличии достаточно большой неопределенности в результатах индивидуальных измерений ($\pm 25-30\%$), в первую очередь, могут быть *предназначены сегодня не для получения индивидуальных диагностических заключений, а для изучения в медицине различий в средних показателях в группах сравнения в тех или иных клинических ситуациях.*

Подтверждение данному тезису было получено в рамках данного проекта в 2009г. на выборке пациентов в 50 человек с базалиомами кожи лица в клинике челюстно-лицевой хирургии МОНИКИ. При изучении таких индивидуальных ДК как K_f (в разных спектральных диапазонах длин волн), редокс-статус, удельное потребление кислорода в тканях и т.п. отдельные диагностические заключения по каждому конкретному пациенту вследствие неопределенности в значении каждого ДК в $\pm 25-30\%$ в каждом конкретном случае оказались трудно выполнимыми. Однако групповые различия, подтвержденные клиническими результатами по оценке эффективности последующего криохирургического лечения, оказались достоверны по критерию Стьюдента на 95% по большинству указанных ДК. Исключение составил редокс-статус опухоли, где наиболее значимым медико-биологическим фактором, влияющим на конечный диагностический результат, является

сложный состав флюорохромов в тканях опухоли, приводящий к неоднозначности интерпретации спектров флюоресценции в терминах накопленных в тканях веществ (см. раздел 5.3).

Как показали результаты других фрагментов исследований, изучение рассматриваемой проблемы устойчивости других ДК в других методах НМС, в частности в ОТО, не вносит скольконибудь существенных отличий и дополнений в уже озвученные результаты и выводы. Для любых выбираемых ДК в НМС наименьшая устойчивость проявляется к интерактивной составляющей погрешности. Во всех случаях проведение повторных многократных измерений и измерений медицинским персоналом с более высокой квалификацией снижает неопределенность результата измерений.

5.3 Проблема интерпретации суммарных спектров флюоресценции

Сравнительный анализ 1-го и 2-го этапов экспериментальных исследований (физических и медико-биологических) позволил в итоге вычленивать, систематизировать и проанализировать все основные физические и медико-биологические механизмы, факторы и явления, наиболее сильно влияющие на метрологические характеристики методов и приборов в НМС. В результате этого анализа была вычленена и проблема множественности флюорофоров тканей человека и животных и, соответственно, проблема интерпретации (или ошибок интерпретации) суммарных спектров флюоресценции тканей *in vivo* в терминах отдельных накопленных в тканях веществ. Эта проблема в постановочном плане рассматривалась нами на третьем этапе экспериментальных исследований по проекту с использованием лабораторных животных вивария МОНИКИ. Как одну из важных новых проблем, поставленных перед коллективом в связи с появившейся возможностью с 2009г. работать с лабораторными животными, мы выделили проблему врачебной интерпретации результатов лазерной флюоресцентной диагностики (ЛФД) в плане идентификации флюоресцирующих веществ в тканях по их суммарным регистрируемым спектрам флюоресценции. Точнее – в плане достоверности и точности такой идентификации, как одной из ключевых проблем метрологического обеспечения всей ЛФД, поскольку ошибочная интерпретация спектров, вне зависимости от точности получаемых по ним количественных данных, в любом случае будет приводить к ошибочному итоговому диагностическому заключению врача.

Хотя этой проблеме и посвящено сегодня достаточно много научных публикаций, проблема существует, и по многим веществам присутствуют разные, а порой и ошибочные, а также взаимно противоположные мнения и данные. В частности, в ряде публикаций расходятся данные авторов по форме спектров флюоресценции даже для ряда отдельных, казалось бы хорошо изученных индивидуальных веществ, а также данные по положению максимума в этих спектрах, чего быть уж точно не должно. Например, как сообщается в публикации [46], максимум спектра флюоресценции молекул NADH регистрировался авторами на их установке на длине волны 475нм. В публикации

же [47] максимум спектра флуоресценции NADH оценивается на длине волны 455 нм. Разница – в 20 нм! Что это? Это погрешности диагностики, или ошибки другого рода? Соответственно, коллектив проекта, пользуясь правом руководителя менять объем работ по проекту в пределах объявленных общих целей и задач проекта, поставил перед собой дополнительную задачу на 2009-2010 гг.: в рамках имеющихся средств попытаться, на сколько это возможно, обосновать появление тех или иных линий в спектрах флуоресценции *in vivo* наличием в тканях различных природных флуорохромов и оценить возможность ошибочной интерпретации спектров.

Первая серия экспериментов была проведена в 2009г. на лабораторных животных – белых нелинейных мышках и крысах. Регистрировались сигналы эндогенной флуоресценции на хвосте мышей и крыс в синей, зеленой и красной областях спектра при питании животных различными кормами с разным содержанием порфирина, витаминов В₁₂ и В₆. По литературным данным люминесценция в красной области спектра чаще всего связана с присутствием порфиринов в живых клетках. Поэтому, в рацион питания одной из экспериментальных групп лабораторных грызунов были включены корма с повышенным содержанием порфирина (комбикорм на основе костной муки, при выработке которой технологически используется порфирин). В результате было зафиксировано, что у подопытных животных после длительного потребления порфирина (месяц и более) физикально обнаруживаются избыточные коричневые (порфириновые) выделения из глаз и носа, что указывает на избыточное содержание этого вещества в организме животного.

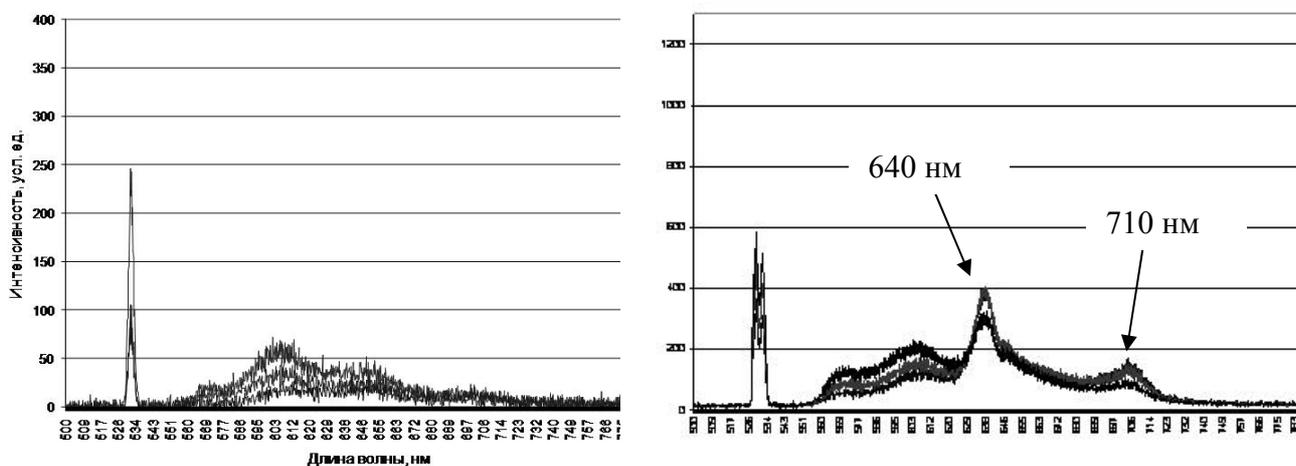


Рис. 5.9. Эндогенная флуоресценция тканей хвоста крысы контрольной группы (слева) и группы эксперимента с пищевым порфирином (справа). Возбуждение в линии 532 нм.

Обследование на комплексе «ЛАКК-М» также показало появление избыточных сигналов флуоресценции для группы эксперимента с порфирином с максимумами на длинах волн 640 и 710 нм, причем как при ее возбуждении в линии 532нм (рис.5.9), так и при возбуждении в линиях 375нм и 632нм (в последнем случае фиксируется один максимум на 710нм (рис. 5.10)). Причем весьма характерным явилось то, что классический «двугорбый» спектр флуоресценции порфири-

на практически не изменил контуры линии флюоресценции других веществ на графике (линии 560 и 608 нм рис. 2.9), а лишь слегка «приподнял» их. Т.е. достаточно уверенно можно утверждать, что *линии 640нм и 710нм однозначно характеризуют в спектре повышенную иммобилизацию порфирина в тканях, и что флюоресценция порфирина не влияет на оценку иммобилизации в тканях других веществ по их флюоресценции в соседних линиях 560 и 608нм.*

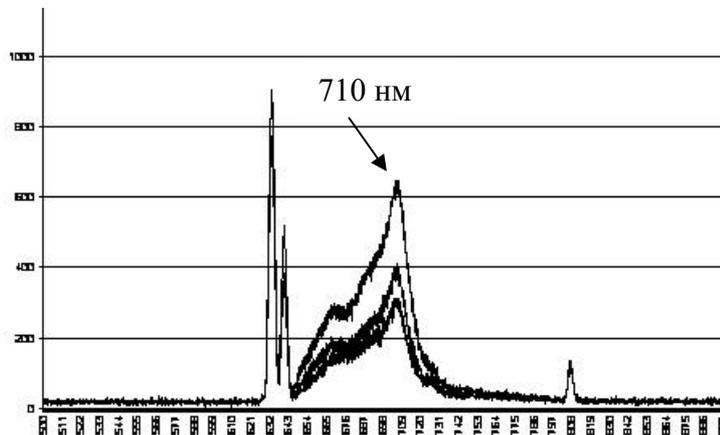


Рис. 5.10. Эндогенная флюоресценция тканей хвоста крысы группы эксперимента с пищевым порфирином. Возбуждение в линии 632 нм. Максимум флюоресценции порфирина 710 нм.

Также, по данным литературы известно, что введение в рацион питания животных витамина В₁₂ приводит к дополнительной стимуляции метаболизма и энергетического обмена, а именно к увеличению окисления флавопротеинов. Однако при избытке витамина В₁₂ может происходить интоксикация организма. На фоне токсического отравления могут наблюдаться и патологические нарушения в обмене гемосодержащих соединений, что также может приводить к появлению характерной повышенной флюоресценции порфиринов в клетках. Опираясь на эти данные, еще одна серия экспериментов была проведена с витамином В₁₂. В течение месяца ежедневно в воду животным добавляли жидкий витамин В₁₂ в концентрации 30 мкг на одну мышь. Уже через неделю приема В₁₂ у животных наблюдали резкое повышение яркости излучения в области зеленого и оранжевого спектра с максимумами 546, 565 и 608 нм при возбуждении флюоресценции в линии 375нм (рис. 5.11). Обнаружилось также неожиданное появление сильной и узкой линии флюоресценции 550нм и резкий всплеск флюоресценции в районе 680нм, что в литературе практически не описано (впоследствии линия 550нм была признана ошибкой эксперимента, ее появление было вызвано паразитной внешней засветкой).

Основываясь на полученных результатах, сегодня можно утверждать с очень большой долей вероятности, что флюоресценция в диапазоне 540–600нм вызывается окисленными формами флавиновых ферментов. Их флюоресценция также не влияет на форму спектра флюоресценции других соседних веществ, однако более точно на основе проведенных экспериментов указать причи-

ны появления такого большого количества максимумов в спектре флюоресценции флавинов пока не представляется возможным.

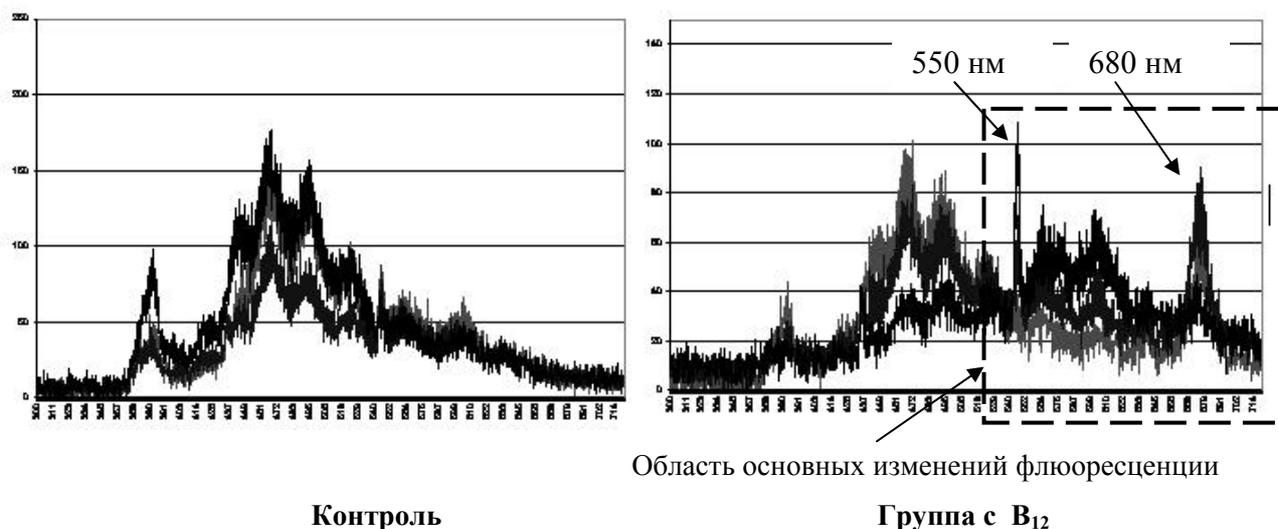


Рис. 5.11. Эндогенная флюоресценция тканей животного в эксперименте с витамином B₁₂. Контроль (слева) и изменения через неделю (справа). Возбуждение в линии 375нм.

В конце же эксперимента в области зеленого и красного диапазонов спектра в группе мышей, которых поили витамином B₁₂, было обнаружено ожидаемое повышение эндогенной флюоресценции порфиринов с уже выявленными максимумами 640нм и 710нм (фаза гипervитаминоза). Таким образом, было установлено, что интерпретация линий флюоресценции, рассмотренных на этом этапе проекта, позволяет их чисто качественно достаточно достоверно и правдоподобно связать с уровнями накопления использовавшихся в эксперименте природных флюорофоров, а также предсказать по ним на основе известных литературных данных дальнейшее развитие клинической ситуации. Но проблема количественного разбиения суммарных регистрируемых спектров флюоресценции на вклады от флюоресценции отдельных флюоресцирующих веществ биотканей, а также оценка по этим вкладам относительного процентного содержания отдельных флюорофоров в зоне обследования остается. Множественность максимумов в суммарных спектрах флюоресценции, влияние близко расположенных спектров на амплитуду друг друга и т.д. – все это делает проблему разделения спектров далеко не тривиальной. Но эта проблема крайне важна и для практической медицины, и для медицинской науки в целом, т.к. именно информация о содержании в зоне обследования конкретных отдельных флюорофоров и их количество и составляют основу медицинской интерпретации данных ЛФД по эндогенной флюоресценции. Поэтому этой проблеме планируется посвятить отдельное фундаментальное исследование.

5.4 Выводы по этапу медико-биологических исследований

Сравнительный анализ 1-го и 2-го этапа экспериментальных исследований (физических и медико-биологических) позволил, по нашему мнению, впервые в мире в конечном итоге вычлениить и проанализировать отдельно от физических основные медико-биологические факторы, механизмы и явления, наиболее сильно влияющие на метрологические характеристики методов и приборов НМС. Все основные физико-технические факторы и явления были проанализированы и систематизированы в разделе 4 отчета. В данном разделе исследований с их учетом был теперь проанализирован весь массив собранных экспериментально-клинических данных. Было установлено, что основными медико-биологическими факторами и явлениями, наиболее сильно влияющими на результат и разброс результатов измерений в НМС, являются:

1. Факторы и явления, обусловленные взаимодействием средства измерения и БО, в результате чего происходит изменение свойств БО и возникает так называемая *интерактивная составляющая погрешности*. На ее долю может приходиться до 85-90% общей величины совокупной инструментальной и методической погрешности диагностики. Яркий пример – изменения в системе микроциркуляции крови от давления датчика прибора на поверхность БО.

2. Неоднородность обследуемого объекта на уровне анатомо-морфологического строения мягких тканей и системы микроциркуляции крови, что при небольшом смещении датчика прибора приводит иногда к существенному разбросу результатов измерений не вследствие инструментальных погрешностей, а вследствие различий в оптико-физических свойствах обследуемого объекта на расстояниях, равных смещению датчика прибора.

3. Сложная структура и функциональная организация реального объекта диагностики (включая наличие слизи, желчи, сальных и потовых выделений), неполное соответствие которой в принятой упрощенной физико-математической модели БО в каждом конкретном измерительном процессе постоянно приводит к появлению систематических погрешностей (смещенных оценок) при работе вычислительных алгоритмов приборов.

4. Большое количество разнообразных природных флюорохромов в тканях БО, приводящее к сложной структуре регистрируемых спектров флюоресценции и, как следствие, к неопределенностям и ошибкам в интерпретации спектров флюоресценции в терминах накопленных в тканях отдельных веществ.

5. Сильная вариабельность и нормальная индивидуальная физиологическая изменчивость во времени основных оптико-физических свойств объекта диагностики, как на малых отрезках времени вследствие наличия динамических процессов (ритмов регуляции) в системе микроциркуляции крови, что приводит при разовых (однократных) измерениях к ошибочной трактовке случайности процесса разброса результатов измерений, так и на больших отрезках времени (дни, месяцы, годы), приводящая к большим индивидуальным СКО основных измеряемых параметров от их

средних значений, что затрудняет постановку индивидуального дифференциального диагностического заключения (норма/патология).

6. Субъективная погрешность и ошибка человека-оператора (врача), связанная с такими индивидуальными особенностями медперсонала, как степень профессиональной подготовленности, внимательность, сосредоточенность, аккуратность в выполнении всех процедур.

Влияние других медико-биологических или организационно-клинических помеховых факторов и явлений, например, непроизвольные движения пациента во время обследования, внешнее сильное освещение в зоне операционного поля и т.п. признано на данном этапе проекта в свете изучаемой проблемы метрологии методов и приборов НМС несущественным. Все эти факторы и явления легко вычлняются врачом-оператором в момент подготовки прибора к измерениям или непосредственно на этапе проведения измерений. Соответственно, они легко устраняются, в том числе и путем проведения повторных измерений если, скажем, пациент непроизвольно дернулся в момент записи показателей. Т.е. либо эти факторы несущественны и вносят в общую погрешность измерений вклад на уровне менее 1%, либо относятся, фактически, к п.б. и связаны с квалификацией и профессиональной подготовкой медицинского персонала, занятого в данных диагностических процедурах.

6 ГАРМОНИЗАЦИЯ И РАЗВИТИЕ ПОНЯТИЙНО-ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКОГО БАЗИСА В НМС

Одним из важнейших элементов системы единства измерений, а также метрологического обеспечения любых методов и приборов, является строгая и однозначная терминология. Сегодня огромное количество публикаций в НМС использует самый разный понятийно-терминологический базис, что затрудняет анализ и сравнение результатов разных авторов между собой. Поэтому, актуальной в проекте была задача гармонизации и унификации понятийно-терминологического базиса в НМС, особенно в свете стоящих перед НМС проблем создания научно обоснованной системы метрологического обеспечения, как приборов, так и методик измерений в целом. Для решения указанной проблемы, на основе выполненного в ходе проекта анализа полученных результатов, все термины и понятия в НМС было предложено объединить в три группы.

Первую группу понятий должны составлять базовые физико-технические термины, определяющие физические и технические основы диагностических методов в НМС. Наиболее ключевыми и не однозначно понимаемыми (и используемыми) сегодня здесь терминами являются термины, определяющие процесс упругого рассеяния света в биоткани и, соответственно, процесс регистрации выходящего из биоткани вторичного оптического излучения. Предлагается говорить здесь о *диагностике в рассеянном свете*, вне зависимости от места расположения приемника излучения, т.к. любые процессы взаимодействия оптического излучения с биотканями всегда сопровождаются рассеянием света на неоднородностях структуры биоткани. При расположении фотоприемного устройства (ФПУ) в переднем полупространстве по отношению к биоткани можно говорить о *диагностике в обратно рассеянном свете*, а при расположении ФПУ по другую сторону ткани – о *диагностике в прямом рассеянном свете* или о *диагностике в рассеянном свете «на просвет»*. Наиболее же часто используемый сегодня термин «диагностика в отраженном свете» представляется допустимым в НМС только при регистрации исключительно излучения, отраженного от внешней границы раздела сред. В противном случае, термин «отраженное излучение» может трактоваться двояко – и как истинно отраженное излучение от границы раздела, и как излучение, обратно рассеянное в направлении на ФПУ (что чаще всего и происходит), что вносит путаницу в терминологию. Дополнительно, в связи с развитием вычислительных методов оптики светорассеивающих сред, более строгого определения требуют сегодня термины транспортных коэффициентов рассеяния (μ_s), поглощения (μ_a) и транспортного альбедо (W_0). В ходе работ по проекту, при теоретическом описании эффекта диагностического объема (ЭДО), было дополнительно показано [48, 49], что под транспортным коэффициентом рассеяния наиболее правильно сегодня понимать транспортный коэффициент, определяемый для идеально светорассеивающей среды без поглощения в приближении многократного рассеяния [39]. А транспортное альбедо следует трактовать как отношение коэффициентов второго и первого слагаемых правой части общего интегро-

дифференциального уравнения переноса излучения без разделения первого коэффициента уравнения на отдельные и не зависящие друг от друга транспортные коэффициенты рассеяния и поглощения. Классическое же определение альбедо, в котором в знаменателе дроби стоит сумма транспортных коэффициентов рассеяния и поглощения, приводит в ряде задач к ошибочным результатам с ошибкой до 12-15% [49].

Вторую группу понятий в НМС должны составлять термины и определения, обозначающие для врача те медико-биологические показатели, которые регистрируются приборами НМС. В связи с тем, что все приборы НМС реализуют принцип косвенных измерений (не прямых, да еще и через кожу, слизистую и т.п.), очевидно, не всегда можно ставить знак равенства между величиной показателя, зарегистрированного этими приборами, и привычными для врача диагностическими понятиями, скажем, содержанием гемоглобина в крови или количества эритроцитов (гематокрита - Ht). Последнее понятие, Ht , например, в лабораторной диагностике однозначно определено по процедуре его измерения (*операциональный подход!*). Лабораторный анализ на гематокрит проводят с помощью специальной стеклянной градуированной пробирки, которую заполняют цельной кровью и центрифугируют. Высота столбика осевших эритроцитов в миллиметрах и будет равна гематокриту в процентах. В НМС же методом оптической тканевой оксиметрии определяется схожий параметр – объемная доля эритроцитов в системе микроциркуляции крови V_b . Однако в общем случае он не равен классическому Ht , т.к. в НМС он определяется транскутанно, как доля эритроцитов (гемоглобина) в общем диагностическом объеме (ЭДО) окружающих сосудистое русло сторонних клеточных тканей. Наиболее логично в этом случае говорить о каком-нибудь «*тканевом*» гематокрите, с конкретизацией того ЭДО, с которого проведены измерения. То же самое можно сказать и о других параметрах: тканевой сатурации оксигемоглобина, тканевой перфузии и т.д. Международные рекомендации в такой ситуации, когда нельзя непосредственно использовать классические размерные величины, а измерения проводятся, например, через кожу, заключаются в использовании понятий «*транскутанных индексов чего-то*», например, *транскутанный билирубиновый индекс*, или *транскутанный индекс напряжения кислорода*. Этот же подход предложено применить и в НМС. Все параметры содержания веществ в ЭДО в методах НМС принципиально определяются в привязке к окружающим и сильно рассеивающим свет сторонним биотканям. Получить точное и размерное значение концентрации вещества в ткани методами НМС очень проблематично, т.к. не всегда точно известен не только сам ЭДО, с которого снимается полезный оптический сигнал, но и влияние на конечный диагностический результат многих других сторонних медико-биологических и физико-технических факторов. Скажем, для методов флуоресцентной диагностики *in vivo* интенсивность линии флуоресценции того или иного вещества в ткани зависит не только от его концентрации в ЭДО, но и от глубины залегания флуорофора под поверхностью кожи, температуры среды, транспортного коэффициента рассеяния и погло-

щения света в ткани, наличия тушащего флюоресценцию кислорода рядом с молекулами флюорофора, квантового выхода флюоресценции и т.д. [17, 41, 50, 51]. Поэтому говорить здесь можно лишь об условных единицах концентрации вещества в том или ином ЭДО, что в полной мере может быть поименовано сегодня как *индекс транскутанного (или тканевого) содержания вещества* в зоне обследования (индекс тканевого меланина, индекс тканевого протопорфирина, липофусцина и т.д.). В этом случае, если известен из результатов диагностики неискаженный спектр флюоресценции какого-то отдельного конкретного вещества в ткани, можно говорить о вычислении *индекса тканевого содержания* (ИТС) этого вещества по характерному наблюдаемому на экране монитора компьютера максимуму его интенсивности флюоресценции с использованием формулы:

$$I_{\text{вещество}}^{\lambda_1 / \lambda_2} = \frac{\beta \cdot I_{\phi}^{\lambda_2}}{I_{\lambda}^{\lambda_1} + \beta \cdot I_{\phi}^{\lambda_2}}, \quad (6.1)$$

где: $I_{\text{вещество}}^{\lambda_1 / \lambda_2}$ - определяемый ИТС вещества, λ_1 и λ_2 – используемые длины волн (нм) для возбуждения и регистрации флюоресценции соответственно. При одних и тех же длинах волн ИТС вещества в точности будет равен коэффициенту K_f по (3.2), деленному на 2. Таким образом, ИТС любого вещества всегда будет меняться в диапазоне от 0 (*min*) до 1 (*max*) и сочетает в себе такие достоинства перед другими диагностическими критериями как понятную физическую интерпретацию и достаточно высокую метрологическую надежность, соизмеримую с K_f .

И третью группу терминов в НМС должны составлять термины, определяющие метрологические характеристики формируемого интегрального диагностического заключения. Особое внимание здесь должно быть обращено на однозначность понятий и процедур вычисления разбросов результатов измерений, доверительного интервала и точности результатов измерений. Пока в этой области НМС совсем мало фундаментальных научных работ. Подавляющее большинство авторов используют априори представления о нормальном законе распределения результатов и погрешностей измерений, а также о вычислении доверительных интервалов через стандартное среднеквадратическое отклонение. Однако результаты работы по проекту показали, что большинство измеряемых в НМС параметров и величин **не распределены нормально**. Например, параметр тканевой сатурации оксигемоглобина в крови, выраженный в процентах, в физиологической норме находится на уровне 85-90% для слизистых оболочек полости рта. Максимальное же его значение (чисто теоретическое) – 100%. Следовательно, разброс результатов измерений «вверх» и «вниз» от физиологического среднего значения не может быть равновероятным. По нашим данным, это распределение более похоже на Бета-распределение с резким спадом плотности вероятности до нуля в области значений S_tO_2 , близких к 100%. Поэтому, вопрос о доверительных интервалах результатов таких измерений и о достоверности различий в сравниваемых группах пациентов на основе

результатов таких измерений, может оказаться не таким однозначным, не решаемым простым применением известного критерия Стьюдента, справедливого в общем случае лишь для нормального закона распределения.

7 ПРИНЦИПЫ КОМПЛЕКСНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ СИСТЕМЫ МЕТРОЛОГИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ В НМС

На основании полученных совокупных результатов исследования по проекту, на заключительном этапе работ в проекте были сформулированы общие базовые принципы комплексной организации системы метрологического обеспечения методов и приборов в НМС, как они представляются участникам проекта. Эти принципы включают в себя следующие основные десять пунктов или мероприятий:

А) Принятие, использование и дальнейшее развитие предложенного единого, унифицированного понятийно-терминологического базиса в НМС.

Б) Создание единых и стандартизованных на государственном уровне (Госстандарт) по своим оптическим свойствам рабочих имитационных мер (РИМ) для поверки и настройки приборов НМС, в т.ч. аттестованных эталонных имитационных мер, по которым могут быть унифицированным образом поверены все остальные РИМ.

В) Обязательное оснащение всех приборов НМС рабочими ИМ, которые должны проходить обязательную периодическую поверку и аттестацию на заводах-изготовителях и по которым возможна унифицированная поверка и проверка работоспособности прибора непосредственно в клинике перед началом каждого обследования.

Г) Стандартизация для всех выпускаемых в стране приборов НМС типовых значений для каждого метода диагностики базы измерений r (разных типоразмеров базы), приемных и передающих апертур ω и ω^* оптических блоков и передаточной функции $\beta(\lambda)$ блока оптической фильтрации прибора.

Д) Создание стандартизованных маршрутов обследования пациентов для разных областей и задач медицины, стандартизованных функциональных нагрузочных тестов и проб на систему микроциркуляции крови с инструментальным обеспечением и т.д. для минимизации погрешностей и ошибок диагностики, связанных с недостаточной квалификацией и опытом работы медицинского персонала.

Е) Унификация методов крепления датчиков на теле пациента, контроль и стандартизация положения датчика и давления датчика на ткани пациента для минимизации интерактивной составляющей погрешности и методической погрешности, связанной с неоднозначностью крепления датчика на теле пациента.

Ж) Стандартизация и принятие соглашения о единых алгоритмах вычисления медико-биологических показателей по результатам диагностики на всех уровнях вычислений.

З) Исключение из практики проведения однократных единичных измерений и введение обязательных непрерывных измерений в течение определенного стандартизованного промежутка времени с непрерывной записью показателей, а в случае невозможности надежного крепления датчика для длительных измерений - введение обязательных многократных единичных измерений с усреднением показателей.

И) Стандартизация области неопределенности результатов измерений в НМС, возникающей за счет индивидуальной физиологической вариабельности показателей, на уровне не менее $\pm 50\%$ от измеряемой величины, т.е. принятие СКО физиологического разброса показателей на уровне не менее $\pm 25\%$ от измеренной величины, с одновременным установлением порога дифференцировки клинических ситуаций по данным НМС на уровне не менее $\pm 50\%$ от средних значений измеряемых величин.

К) Введение обязательных пунктов в медико-технические требования и технические условия на выпускаемые приборы, регламентирующих диапазон измеряемых прибором величин и вид линейной/нелинейной спектральной чувствительности прибора внутри этого диапазона.

8 СПИСОК ПОДГОТОВЛЕННЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ПРОЕКТУ

1. Лапаева Л.Г., Рогаткин Д.А., Быченков О.А. Разработка системы метрологического обеспечения неинвазивной медицинской спектрофотометрии: основные задачи и этапы. // В сб. «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии: Доклады 8-й межд. научн.-техн. конф. ФРЭМЭ-2008», Кн. 2. – Владимир: Собор, 2008. – стр. 83-86.

Аннотация. Все методы неинвазивной медицинской спектрофотометрии (НМС) в том или ином виде реализуют принцип косвенных измерений биохимического состава тканей. В этом смысле на первое место при создании таких диагностических приборов и систем выходят сегодня вопросы метрологического обеспечения, как диагностического оборудования, так и всего диагностического процесса обследования пациента в целом. Эти вопросы для диагностических систем НМС сегодня еще изучены крайне слабо. Большинство из существующих задач в этой области можно разбить сегодня на четыре больших группы. Первая группа задач связана с гармонизацией и унификацией всей медико-технической терминологии, присутствующей в НМС. Вторая группа задач связана с созданием единых и стандартизованных эталонных мер (шкал) сравнения и калибровки, воспроизводящих оптические свойства объекта диагностики и пригодных для проведения единой преддиагностической настройки и поверки приборов. Третья группа задач связана с исследованием существующих уровней и источников возникновения систематических, случайных, приборных и методических погрешностей диагностики для разных методов и приборов НМС, а также с поиском путей их учета и минимизации. И четвертая группа задач касается вопросов разработки и создания унифицированных практических методик диагностики в клиниках, которым могли бы следовать практикующие врачи в реальных ситуациях обследования пациентов с различными нозологическими формами заболеваний или с подозрением на их наличие.

2. Лапаева Л.Г., Рогаткин Д.А. Простые рабочие эталоны для калибровки и поверки приборов неинвазивной медицинской спектрофотометрии: теория и пример реализации. // Материалы 9-й междун. научн.-техн. Конф. «Измерение, контроль, информатизация» (ИКИ-2008) / Под ред. Л.И.Сучковой. – Барнаул, АГТУ им. И.И. Ползунова, 2008. – стр.145-149.

Аннотация. Статья рассматривает теоретические основы и пример реализации оптических фантомов биотканей (ОФБ), представляющих собой физические (не биологические) среды и устройства, моделирующие (имитирующие) разные функции преобразования "В" светового потока биологическим объектом (БО) в разных ситуациях диагностики методами неинвазивной медицинской спектрофотометрии. Показано, что в смысле классической теории измерительных приборов и устройств, такие ОФБ и есть не что иное, как различные рабочие эталоны и имитационные меры, предназначенные для хранения, воспроизведения и передачи физической величины функции "В", соответствующей разным медико-биологическим параметрам БО в разных ситуациях нормы или патологии. Приводится пример конструкции авторских рабочих имитационных мер, потенциально стандартизуемых и легко воспроизводимых по всем своим оптическим свойствам.

3. Рогаткин Д.А., Быченков О.А., Поляков П.Ю. Неинвазивная медицинская спектрофотометрия в современной радиологии: вопросы точности и информативности результатов измерений. // Альманах клинической медицины, Т. XVII. Часть 1. – М.: МОНИКИ, 2008. - стр. 83-87.

Аннотация. Современная радиология располагает очень небольшим набором методов и средств для индивидуального прогноза эффективности лучевого лечения опухолей. Одним из наиболее перспективных направлений медицинской физики в этом плане является неинвазивная медицинская спектрофотометрия (НМС). Результаты проводимых исследований показывают, что с помощью НМС потенциально можно ставить задачи динамической оценки кислородного статуса опухоли, прогноза ее радиорезистентности, оценки пролиферативной клеточной активности в различных участках новообразований до и в процессе курса радиотерапии и т.д. Точность и информативность спектрофотометрических исследований во многом определяются совокупностью используемых диагностических технологий и возможностью формирования интегральной диагностической концепции по результатам анализа данных отдельных методов и приборов. Часто наблюдаемый разброс в результатах единичных измерений во многом связан не с приборной погрешностью, а с живым и изменчивым характером объекта диагностики.

4. Рогаткин Д.А., Быченков О.А., Лапаева Л.Г. Точность, достоверность и интерпретация результатов *in vivo* лазерной флуоресцентной диагностики в спектральном диапазоне флуоресценции эндогенных порфиринов // Оптический журнал, т. 76, №11, 2009. - с. 46-53.

Аннотация. Недавно на основе анализа различных клинических данных было высказано предположение, что часто наблюдаемая *in vivo* повышенная флуоресценция эндогенных порфиринов в живых биологических тканях является следствием состояния хронической гипоксии в тканях. С этих позиций в статье обсуждается медицинская точность, воспроизводимость и информативность методов *in vivo* лазерной флуоресцентной диагностики (ЛФД) в реальной клинической практике. Показано, что, несмотря на установленную ранее случайную погрешность единичных измерений в ЛФД в 30-40%, медицинская точность и достоверность при интерпретации результатов диагностики может достигать достаточно высокого уровня. Формальный «случайный» разброс в результатах единичных измерений в большинстве своем определяется не приборной, а методической погрешностью и живым и изменчивым характером объекта диагностики, особенно на уровне системы микроциркуляции крови.

5. Rogatkin D.A., Lapaeva L.G., Petritskaya E.N., Sidorov V.V., Shumskiy V.I. Multifunctional laser noninvasive spectroscopic system for medical diagnostics and metrological provisions for that // Proc. SPIE, Vol. 7368, 2009. - 73681Y.

Abstract. This paper describes a new multifunctional laser noninvasive diagnostic system (MLNDS) for medicine. In a single hardware MLNDS combines 3 different in vivo laser diagnostic techniques: Laser Doppler Flowmetry, Laser Fluorescent Diagnostics and Reflectance Tissue Oximetry. All these methods together allow a doctor to evaluate more exactly and in vivo a functional condition of soft tissues, especially to study the finenesses of respiratory and blood microcirculation processes in a skin and mucosa. The complex complementary diagnostics turns out to be more powerful than a trivial sum of isolated one. To produce more precise measurements a number of problems of metrological providing for that have been studied as well as a set of simple, reproducible and photostable calibration gauges with tissue-like optical properties has been created.

6. Rogatkin D.A., Lapaeva L.G., Petritskaya E.N. Diagnostic volume phenomenon in noninvasive medical spectrophotometry and a simple theoretical definition of that // Proceedings of PIERS'2009 Symposium, August 18-21, Moscow, Russia, 2009. - p.1762-1765.

Abstract. The article proposes a strict definition of the notation of “diagnostic volume” (DV) in a modern medical in vivo spectrophotometry. Theoretical description of a calculation algorithm to evaluate DV with the use of exact modified one-dimensional Kubelka-Munk approach is proposed as well. In a general case numeric calculations show that for typical human soft tissues effective DV in the simplest one-dimensional theoretical case is lying in a range of 1-8 mm of a depth of the both scattering and absorbing medium.

7. Рогаткин Д.А., Петрицкая Е.Н., Карташова Н.В., Тихонова И.С. Точностные характеристики и разброс результатов измерений в ЛДФ с использованием функционального теста с артериальной окклюзией // Мат. VII-й Междун. Конф. «Гемореология и Микроциркуляция. От функциональных механизмов в клинику», Ярославль, 12-15 июня, 2009. - с.199.

Аннотация. Цель работы - изучение воспроизводимости и разброса результатов измерений резерва капиллярного кровотока (РКК), определяющего тип микроциркуляции крови, при использовании функционального теста с плечевой артериальной окклюзией. Методика: Под наблюдением находилось 15 человек, как условно здоровых добровольцев, так и пациентов различных клиник МОНИКИ. 6 испытуемых исследованы на предмет сравнения РКК, измеренного одновременно на пальцах левой и правой руки. 9 испытуемых обследовалось многократно до 5 раз с интервалом в несколько дней для оценки разброса результатов измерений на интервале наблюдения. Результаты: получена удовлетворительная воспроизводимость РКК со случайным разбросом (относительной погрешностью измерений) на уровне $\pm 15\%$. Основную погрешность по нашим данным вносит скорость и полнота нагнетания давления в манжету для достижения артериальной окклюзии.

8. Рогаткин Д.А., Дунаев А.В., Лапаева Л.Г. Метрологическое обеспечение методов и приборов неинвазивной медицинской спектрофотометрии. // Медицинская техника, №2 (260), 2010. – с.30-37.

Аннотация. В статье предприняты первые шаги по систематизации и анализу наиболее существенных и специфичных метрологических терминов, понятий и определений, применимых к практике неинвазивной медицинской спектрофотометрии (НМС). Предложено использовать операциональный подход в метрологии для задачи разработки и создания полноценного метрологического обеспечения в НМС. С этих позиций рассмотрены некоторые ключевые особенности и аспекты оптических in vivo измерений в НМС, обосновано создание имитационных рабочих мер и введение в теорию и практику НМС понятия диагностического объема биоткани.

9. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г., Шумская О.В., Терещенко С.Г. Способ создания моделей, имитирующих оптические свойства живых биологических тканей. – Патент РФ № 2389083 с приоритетом от 21.11.2008, G09B 23/28, A61B 5/145, Опубл. 10.05.2010, бюл. №13.

Аннотация. Патент на изобретение. Изобретение относится к медицине и может быть использовано для имитации оптических свойств живых биологических тканей. В патенте описываются ограничительные и отличительные признаки защищаемого способа моделирования оптических свойств живых биологических тканей.

10. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г., Сидоров В.В. Устройство для калибровки медицинских диагностических спектрофотометрических приборов. – Патент РФ № 2398232 с приоритетом от 21.11.2008, G09B 23/28, A61B 5/145, Опубл. 27.08.2010, бюл. №24.

Аннотация. Патент на изобретение. Изобретение относится к медицине, а именно к устройствам для калибровки диагностических спектрофотометрических приборов. В патенте описываются защищаемые отличительные характеристики конструкции имитационных мер с использованием полимерных оптических пленок.

11. Макаров Д.С., Рогаткин Д.А. Физиологический разброс индивидуальных параметров микроциркуляции крови как источник ошибок в неинвазивной медицинской спектро-фотометрии // Труды IX Междунар. конф. «Физика и радиоэлектроника в медицине и экологии – ФРЭМЭ-2010». Владимир-Суздаль, 2010. – с.78-82.

Аннотация. В статье рассматривается ряд экспериментов по изучению физиологической вариабельности параметров микроциркуляции крови и ее влиянию на точность, достоверность и интерпретацию результатов диагностики методами лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и оптической тканевой оксиметрии (ОТО). Человек, как объект диагностики параметров микрогемодинамики и транспорта кислорода в системе микроциркуляции крови, является в общем случае динамически изменчивой системой с широким диапазоном физиологического разброса показателей в норме, измеряемых *in vivo* методами ЛДФ и ОТО. Относительный физиологический разброс результатов измерений в ЛДФ и ОТО находится в диапазоне не менее $\pm 30\%$ по уровню "сигма" (СКО) от среднего измеренного значения каждого параметра. Если же принимать, как это обычно принято в измерениях в медицине, доверительную вероятность безошибочного результата в 95%, т.е. оценивать результат по уровню 2"сигма", теоретический физиологический разброс возрастает до $\pm 60\%$, что может поставить под сомнение ряд результатов других авторов по дифференциальной диагностике норма/патология по критериям, различающимся между собой на меньшую величину. Выходом из такой ситуации сегодня, по мнению авторов, является такая диагностическая схема исследования, которая включает в себя обязательное измерение величин в симметричных точках тела, а также измерения изменений показателей в ответ на предъявление стимулов различной природы (физических, химических). Диагностические критерии по результатам функциональных нагрузочных проб на систему микроциркуляции крови, выполнение которых может быть методически строго нормировано и регламентировано, в частности по результатам окклюзионного теста, оказываются более метрологически надежными и достоверными в сравнениями с данными исследований параметров в фоновых (базовых) тестах без нагрузок.

12. Макаров Д.С., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А. Вопросы гармонизации и унификации понятийно-терминологического базиса в неинвазивной медицинской спектрофотометрии // Материалы XI Межд. научно-технич. конференции «Изменение контроль информатизация» (ИКИ-2010). – Барнаул, АГТУ им. И.И.Ползунова 2010. - с. 126-129.

Аннотация. Одним из важнейших элементов системы единства измерений, а также метрологического обеспечения любых методов и приборов, в том числе и неинвазивной медицинской спектрофотометрии (НМС), является строгая и однозначная терминология. Сегодня огромное количество публикаций использует в НМС самый разный понятийно-терминологический базис, что затрудняет единый анализ и сравнение результатов диагностики между собой. Статья анализирует существующее положение дел в этой области и предлагает унификацию понятийно-терминологического базиса в НМС с разбиением всех терминов в НМС на три группы: группу физико-технических терминов, определяющих физические принципы и

методы работы приборов НМС, группу терминов, определяющих для врача медико-биологические показатели и параметры, существенные для НМС, и группу терминов, определяющих метрологические характеристики формируемого интегрального диагностического заключения.

13. Rogatkin D.A., Makarov D.S., Dmitruk L.I. Informativeness and sources of errors of in vivo laser spectrophotometry methods in diagnostics of blood microcirculation disorders. // Abstract book of International symposium on laser medical applications – Moscow, A.M.Prokhorov General Physics Institute, 2010. – p.35-36.

Abstract. The paper describes a number of experiments on accuracy of noninvasive laser Doppler flowmetry (LDF) and tissues reflectance oximetry (TRO). It has been shown, that all main diagnostic parameters in up-to-date LDF and TRO had the standard uncertainties (standard deviation) not less than $\pm 25\text{...}30\%$ from the registered average values. It is caused by normal or pathological physiological variations of the individual microhemodynamic parameters as well as by the errors of the applied diagnostic techniques. Normal physiological deviations of the main LDF and TRO diagnostic parameters were detailed evaluated for two healthy volunteers (men). For one of the examinees it was evaluated daily, within 10 days on end; for another one – during the last 6 years by means of retrospective analysis of existing data for him. It has been shown that only values of diagnostic NMS' parameters that differ from each other more than in twice standard deviation (not less than $50\text{...}60\%$) can be considered as the significantly different results. To minimize the operational clinical errors the standard clinical examination technique should be developed. To minimize the basic individual variations it is necessary to apply various functional tests.

14. Рогаткин Д.А. Инструментальные и методические погрешности измерений в неинвазивной медицинской спектрофотометрии: результаты трехлетних фундаментальных исследований // Материалы III Евразийского конгресса по медицинской физике и инженерии «Медицинская физика – 2010», т. III. - М.: МГУ, 2010. - с. 38-41.

Аннотация. Доклад посвящен итоговому анализу основных результатов выполнения трехлетнего проекта РФФИ № 08-02-00769а по поиску источников и оценке уровней погрешностей диагностики в неинвазивной медицинской спектрофотометрии. Приводится обобщенная схема измерений и формулируется основная измерительная задача в НМС. Анализируются наиболее существенные физико-технические и медико-биологические источники различий в показаниях приборов и источники разбросов результатов измерений. Формулируются основные источники возникновения случайных и систематических инструментальных погрешностей диагностики, источники дополнительной инструментальной погрешности, источники методических погрешностей в НМС и т.д.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Авторам проекта неизвестны другие подобные комплексные работы, направленные на исследование основных фундаментальных вопросов метрологии измерений в НМС, ни в России, ни за рубежом. В литературе встречаются лишь отдельные публикации, направленные на изучение отдельных вопросов точности и разброса результатов измерений в зависимости от тех или иных отдельных частных факторов или условий проведения измерений. Например, известно несколько публикаций в России и за рубежом по влиянию давления датчика на ткани пациента на регистрируемые показатели в НМС [41]. В этом плане полученные результаты проекта дополняют и развивают данные этих авторов. Но это частный результат. С другой стороны, данные имеющихся отдельных публикаций, скажем, по точности измерений в оптической тканевой оксиметрии (например, [11]), показывают общую существующую тенденцию развития работ в направлении изучения метрологических аспектов измерений в НМС во всем мире. Но пока еще эти работы не охватывают всей проблемы системно, в комплексе, как это сделано в данном проекте, а сосредоточены на изучении одного отдельно взятого метода или прибора, имеющегося в распоряжении автора, или явления (например, давления датчика на ткани БО). Подтверждением сказанному может служить тот факт, что сегодня ни для одного выпускаемого в мире профессионального прибора НМС (тканевые оксиметры, лазерные доплеровские флоуметры и т.п.), кроме пульсовых оксиметров, не указываются грамотно ни в технической документации на приборы, ни в инструкции по эксплуатации ни диапазоны регистрируемых прибором показателей, ни класс точности прибора, ни характеристики его чувствительности внутри измеряемого диапазона, т.е. не указываются грамотно ни в каком виде никакие его важнейшие метрологические характеристики⁷. Нет также в мире стандартизованных (единых) и легко воспроизводимых по своим оптическим свойствам рабочих имитационных мер, по которым унифицированным образом могли бы настраиваться и поверяться все такие измерительные приборы во всем мире. Данный же выполненный проект раскрывает общие закономерности и причины возникновения погрешностей и ошибок измерений в НМС, дает варианты решений указанных проблем и показывает реальные и научно обоснованные пути увеличения точности и повышения достоверности измерений в НМС.

Такая комплексная задача в современной НМС по оценкам руководителя и участников проекта была поставлена и решена **впервые в мире**. Ее решение призвано расширить наши знания в этой области науки и медицинской техники и послужить далее научно-методологическим фундаментом при разработке и создании конкретного метрологического оснащения конкретных медицинских диагностических приборов и устройств данного класса.

⁷ Указание в паспорте на прибор «ЛАКК-02» диапазона измерений I_m в виде $0 \dots 100$ пф.ед. нельзя признать грамотным с точки зрения метрологии, т.к. остается непонятной чувствительность прибора в области нулевой перфузии. Скажем, величину $I_m=10^{-10}$ пф.ед. он зарегистрирует? Очевидно, что всегда есть минимальный порог чувствительности прибора, ниже которого он «не видит» изменений в регистрируемой величине, и «0» не может быть измерен.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Оптическая биомедицинская диагностика. В 2-х т. / Пер. с англ. Под ред. В.В.Тучина – М.: Физматлит, 2007. – 560с.
2. Александров М.Т. Лазерная клиническая биофотометрия (теория, эксперимент, практика) – М.: Техносфера, 2008. – 584с.
3. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / Под ред. А.И. Крупаткина, В.В. Сидорова. - М.: Медицина, 2005. – 256с.
4. Руководство по оптической когерентной томографии / Под ред. Н.Д. Гладковой, Н.М. Шаховой, А.М.Сергеева. – М.: Физматлит, 2007. – 296с.
5. Ромашков А.П., Тихомиров С.В. Состояние и перспективы метрологического обеспечения лазерной медицины и лазерной медицинской техники // Измерит. техника, №9, 1998. – с.41-46.
6. Опалев А.А., Эмануэль В.Л. Основы медицинской метрологии. - СПб: СИГМУ им. И.П. Павлова, 1999. – 96с.
7. Муха Ю.П. Метрологические аспекты медицинских измерений // Биомед. радиоэл., №3. 2008. – с.10-15.
8. Раннев Г.Г., Тарасенко А.П. Методы и средства измерений. Уч. Для вузов. – М.: «Академия», 2003. – 336с.
9. ГОСТ 16263-70. Государственная система обеспечения единства измерений. Метрология. Термины и определения. – М.: Госстандарт, 1970.
10. Межгосударственные рекомендации РМГ 29-99 «Метрология. Основные термины и определения». – М.: ВНИИМС им. Д.И. Менделеева, 2000. (С изменениями 2005г.).
11. Nelson L.A. et. al. Development and validation of a multiwavelength spatial domain near-infrared oximeter to detect cerebral hypoxia-ischemia // J. of Biomed. Opt., v.11, No.6, 2006 (064022).
12. Laufer J et. al. Quantitative spatially resolved measurements of tissue chromophore concentration using photoacoustic spectroscopy: application to the measurement of blood oxygenation and haemoglobin concentration // Phys. Med. Biol., 52, 2007. – p.141-168.
13. Hammer M. et. al. Retinal vessel oximetry-calibration, compensation for vessel diameter and fundus pigmentation, and reproducibility // J. Biomed. Opt., v.13, 2008. (054015).
14. Zhou C., Choe R. et. al. Diffuse optical monitoring of blood flow and oxygenation in human breast cancer during early stages of neoadjuvant chemotherapy // J. Biomed. Opt., v.12, No.5, 2007. (051903).

15. Kim J.G., Liu H. Variation of haemoglobin extinction coefficients can cause errors in the determination of haemoglobin concentration measured by near-infrared spectroscopy // *Phys. Med. Biol.*, 52, 2007 (6295-6322).
16. Dimofte A., Finlay J.C., Zhu T.C. A method for determination of the absorption and scattering properties interstitially in turbid media // *Phys. Med. Biol.*, 50, 2005. – p.2291-2311.
17. Handbook of biomedical fluorescence / Ed. By M-A. Mycek and B.W Pogue. - New York: Marcel Dekker Inc., 2003.
18. Stepp H., Beck T. et. al. Measurement of fluorophore concentration in scattering media by a single optical fiber // *Proc. SPIE*, v. 6139, 2006 (61390S).
19. Lin Y., Gao H. et. al. Fluorescence diffuse optical tomography with functional and anatomical a priori information: feasibility study // *Phys. Med. Biol.*, v.52, 2007. – p.5569-5585.
20. Marin N.M. et. al. Calibration standards for multicenter clinical trials of fluorescent spectroscopy for *in vivo* diagnostics // *J. Biomed. Opt.*, v.11, No. 1, 2006 (014010).
21. Pogue B.W., Patterson M.S., Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry // *J. Biomed. Opt.*, v.11, No. 4, 2006 (041102).
22. ГОСТ Р ИСО 9919-99. Оксиметры пульсовые медицинские. Технические требования и методы испытаний. – М.: Госстандарт, 2000.
23. Loschenov V.B., Luckjanetz E.A. et al. Noninvasive evaluation of absolute fluorochrom concentration in various tissues *in vivo* by means of standard samples with modeled optical properties // *Proc. SPIE*, v. 2326, 1995. – p.415-419.
24. Ловинский Л.С., Прокопенко В.Е. Имитаторы пальцевые пульсоксиметрические ИПП-1 // В сб. «Проблемы метрологического обеспечения здравоохранения и производства медицинской техники» / Мат. 3-й Всероссийской Конф. – Сочи: ВНИИОФИ, 2003. – с.45-46.
25. Dimbylov P.J., Hirata A., Nagaoka T. Intercomparison of whole-body averaged SAR in Europe and Japanese voxel phantoms // *Phys. Med. Biol.*, v. 53, 2008. – p.5883-5897.
26. Hebden J.C., Price B.D. et al. A soft deformable tissue-equivalent phantom for diffuse optical tomography // *Phys. Med. Biol.*, v.51, 2006. – p.5581-5590.
27. Soelkner G., Mitic G., Lohwasser R. Monte-Carlo simulations and laser Doppler flow measurements with high penetration depth in biological tissuelike head phantoms // *Appl. Opt.*, v.36, No. 22, 1997. - p.5647-5653.
28. Ардасенов А.В., Хугаева В.К., Александров П.Н. Микроциркуляторное русло кожи в условиях воспаления и коррекции методом лимфостимуляции – М.: Научный мир, 2004.
29. ГОСТ Р 15.013-94: Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия. – М.: Госстандарт РФ, 1995.

30. Колосницын Н.И., Кононогов С.А. О методологических принципах метрологии. // Измерительная техника, №8, 2006. - с.3-5.
31. ГОСТ 8.381-80: Государственная система обеспечения единства измерений. Эталоны. Способы выражения погрешностей. – М.: Госстандарт, 1980.
32. Межгосударственные рекомендации РМГ 43-2001 «Государственная система обеспечения единства измерений. Применение «Руководства по выражению неопределенности измерений»». - М.: ВНИИМС им. Д.И. Менделеева, 2001.
33. Миронов Э.Г. Краткий сравнительный анализ применения понятий «погрешность» и «неопределенность» измерений. // Измерительная техника, 2009, №2. – с.70-71.
34. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г. Комплексный биотехнический подход на этапе идейно-технического проектирования многофункциональных диагностических систем для медицинской неинвазивной спектрофотометрии. // Биомедицинская радиоэлектроника, № 8-9, 2008. – с. 89-97.
35. Рогаткин Д.А., Дунаев А.В., Лапаева Л.Г. Метрологическое обеспечение методов и приборов неинвазивной медицинской спектрофотометрии. // Медицинская техника, №2 (260), 2010. – с.30-37.
36. ГОСТ Р ИСО 9919-99: Оксиметры пульсовые медицинские. Технические требования и методы испытаний. – М.: Госстандарт РФ. – 2000.
37. Рогаткин Д.А., Приснякова О.А., Моисеева Л.Г., Черкасов А.С. Анализ точности лазерной клинической флюоресцентной диагностики // Измерительная техника, №7, 1998. - с.58-61.
38. Рогаткин Д.А., Лапаева Л.Г., Быченков О.А. Вопросы метрологического обеспечения неинвазивных медицинских спектрофотометрических приборов и систем. // Мат. 7-й междун. научн.-практ. конф. «ИКИ-2006». – Барнаул, АГТУ им. И.И.Ползунова, 2006. – с.119-122.
39. Рогаткин Д.А. Об особенностях в определении оптических свойств мутных биологических тканей и сред в расчетных задачах медицинской неинвазивной спектрофотометрии // Медицинская техника, №2, 2007. – с.10-16.
40. Рогаткин Д.А., Быченков О.А., Поляков П.Ю. Неинвазивная медицинская спектрофотометрия в современной радиологии: вопросы точности и информативности результатов измерений. // Альманах клинической медицины, Т. XVII. Часть 1. – М.: МОНИКИ, 2008. - с. 83-87.
41. Синичкин Ю.П., Утц С.Р. *In vivo* отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека. – Саратов, СГУ, 2001. – 92с.
42. Rogatkin D.A., Lapaeva L.G., Petritskaya E.N., Sidorov V.V., Shumskiy V.I. Multifunctional laser noninvasive spectroscopic system for medical diagnostics and metrological provisions for that // Proc. SPIE, Vol. 7368, 2009. - 73681Y.

43. Сидоров В.В., Ронкин М.А., Максименко И.М. и др. Физические основы метода лазерной доплеровской флоуметрии и его применение в неврологической практике // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника, №12, 2003. - с. 26 – 35.
44. Анализатор лазерной микроциркуляции крови для врача общей практики ЛАКК-ОП. – М.: ООО “ЛАЗМА”, 2010. С. 16.
45. Горенков Р.В., Карпов В.Н., Рогаткин Д.А., Шумский В.И. Хроническая гипоксия как один из факторов повышенной флуоресценции эндогенных порфиринов в живых биологических тканях // Биофизика, т.52, № 4, 2007. – с.711-717.
46. Попов А.Ю., Салмин В.В. и др. Спектрофлуориметрический метод оценки ишемии миокарда // Вестник КГУ, №4, 2005. – с.89-92.
47. Rice W.L., Kaplan D.L. and Georgakoudi I. Quantitative biomarkers of stem cells differentiation based on intrinsic two-photon excited fluorescence // JBO Letters, vol.12(6), 2007. – 060504.
48. Rogatkin D.A., Tchernyi V.V., Revised optical properties of turbid media on a base of general improved two-flux Kubelka-Munk approach // Abstr. book of Progress in Electromagnetics Research Symposium “PIERS’2009”, August 18-21, Moscow, Russia, 2009. - p.385.
49. Rogatkin D.A., Lapaeva L.G., Petritskaya E.N. Diagnostic volume phenomenon in noninvasive medical spectrophotometry and a simple theoretical definition of that // Proceedings of PIERS’2009 Symposium, August 18-21, Moscow, Russia, 2009. - p.1762-1765.
50. Хачатурян Г.В., Рогаткин Д.А. Метод моментов в решении задач расчета аутофлуоресценции биологических тканей // Оптика и спектроскопия, т.87, №2, 1999 - с.258-265.
51. Rogatkin D.A., Tchernyi V.V. Mathematical simulation as a key point of the laser fluorescence diagnostic technique in oncology / Laser Use in Oncology II // SPIE Proc., Pap. N10, v.4059, 2000. - p.73-78.
52. Международный Светотехнический Словарь – М.: «Русский язык», 1979.
53. Межгосударственные рекомендации РМГ 29-99 «Метрология. Основные термины и определения». – М.: ВНИИМС им. Д.И. Менделеева, 2000. (С изменениями 2005г.).
54. ГОСТ 16263-70. Государственная система обеспечения единства измерений. Метрология. Термины и определения. – М.: Госстандарт, 1970.